

**ISOLASI DAN UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN SENYAWA DALAM
EKSTRAK ETANOL TEMU KUNCI (*Boesenbergia pandurata*) DENGAN
METODE DPPH**

SKRIPSI

**Diajukan kepada
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Negeri Yogyakarta Guna
Memperoleh Gelar Sarjana
Sains Kimia**



Oleh :

**LUTHFI FITRI FRINDRYANI
NIM: 12307141036**

**PROGRAM STUDI KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS NEGERI YOGYAKARTA**

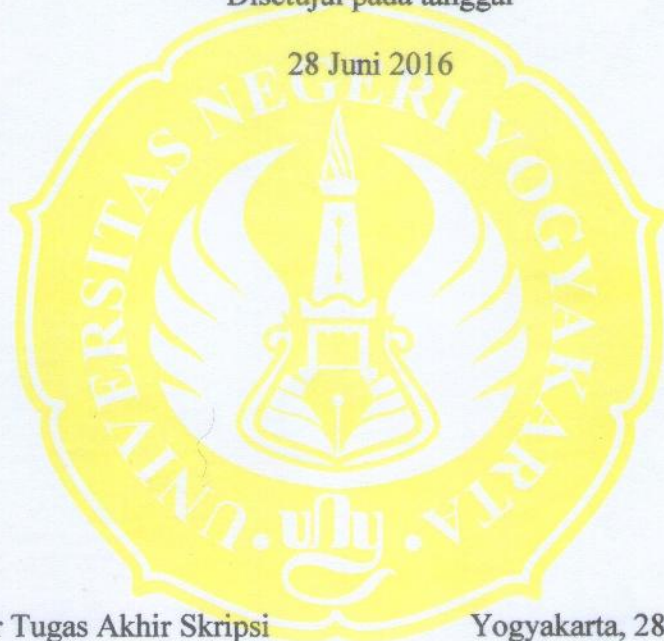
2016

HALAMAN PERSETUJUAN

Skripsi yang berjudul “Isolasi dan Uji Aktivitas Antioksidan Senyawa dalam Ekstrak Etanol Temu Kunci (*Boesenbergia pandurata*) dengan Metode DPPH” yang disusun oleh Luthfi Fitri Frindryani, NIM 12307141036 ini telah disetujui oleh pembimbing untuk diujikan.

Disetujui pada tanggal

28 Juni 2016



Koordinator Tugas Akhir Skripsi

Yogyakarta, 28 Juni 2016

Program Studi Kimia

Pembimbing Utama

Drs. Jaslin Ikhsan, M. App. Sc., Ph.D

Prof. Dr. Sri Atun

NIP. 19680629 199303 1 001

NIP. 19651012 199001 2 001

HALAMAN PENGESAHAN

Skripsi yang berjudul “Isolasi dan Uji Aktivitas Antioksidan Senyawa dalam Ekstrak Etanol Temu Kunci (*Boesenbergia pandurata*) dengan Metode DPPH” yang disusun oleh Luthfi Fitri Frindryani, NIM 12307141036 ini telah dipertahankan di depan dewan penguji pada tanggal 28 Juni 2016 dan dinyatakan lulus.

DEWAN PENGUJI

Nama	Jabatan	Tanda Tangan	Tanggal
Prof. Dr. Sri Atun	Ketua		1-Juli-2016
NIP.19651012 199001 2 001	Penguji		14-Juli-2016
Siti Marwati, M. Si	Sekretaris		1-Juli-2016
NIP. 19770103 200604 2 001	Penguji		15-Juli-2016
Prof. Dr. Nurfina Aznam Apt	(Utama)		
NIP. 19561206 198103 2 002	Penguji		
Dr. Amanatie, M. Pd, M. Si	(Pendamping)		
NIP. 19521230 197603 2 001			

Yogyakarta, 18 Juli 2016

Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Universitas Negeri Yogyakarta

Dekan,



Dr. Hartono

NIP. 19620329 198702 1 002

PERNYATAAN

Yang bertanda tangan di bawah ini saya:

Nama : Luthfi Fitri Frindryani
Nomor Mahasiswa : 12307141036
Program Studi : Kimia
Fakultas : MIPA-UNY
Judul Penelitian : Isolasi dan Uji Aktivitas Antioksidan Senyawa
dalam Ekstrak Etanol Temu Kunci (*Boesenbergia
pandurata*) dengan Metode DPPH.

Menyatakan bahwa penelitian ini adalah bagian dari penelitian payung Prof. Dr. Sri Atun tentang Perkembangan Potensi senyawa Bioaktif dari Famili Zingiberaceae, dan sepanjang pengetahuan saya tidak berisi materi yang sudah dipublikasikan atau ditulis oleh orang lain atau telah dipergunakan dan diterima sebagai persyaratan penyelesaian studi pada universitas atau institut lain, kecuali pada bagian-bagian tertentu yang telah dinyatakan dalam teks.

Yogyakarta, Juni 2016

Yang menyatakan



Luthfi Fitri Frindryani

NIM. 12307141036

MOTTO

“Sesungguhnya Allah tidak merubah keadaan suatu kaum sehingga mereka merubah keadaan yang ada pada diri mereka sendiri.”

-QS. Ar Ra’d 13:11

“Sesungguhnya sesudah kesulitan itu ada kemudahan, sesungguhnya sesudah kesulitan itu ada kemudahan. Maka apabila kamu telah selesai (dari suatu urusan, kerjakanlah dengan sungguh-sungguh (urusan) yang lain dan hanya kepada Tuhanmulah hendanya kamu berharap.”

-QS. Al Insyiraah 6 – 8

When things go wrong as they sometimes will.. don't quit. Rest if you must, but don't quit. If you want to smile but you sigh, don't quit. Keep going, Keep learning, keep reading. Allah selalu on time

PERSEMBAHAN

Segala puji syukur dan terima kasih kepada Allah SWT yang senantiasa memberikan segala yang terbaik dalam menghadapi setiap cobaan dan ujian dalam menyusun laporan Tugas Akhir Skripsi ini hingga dapat terselesaikan.

Skripsi ini, saya persembahkan untuk kedua orang tua saya

Bapak Riyono dan Ibu Trimurti Ningsih

“Terima kasih Bapak, Ibu tercinta yang telah sabar membimbing, mengarahkan, memberikan motivasi, nasehat serta doa-doa hingga anakmu ini dapat menyelesaikan laporan Tugas Akhir Skripsi. Maafkan anakmu ini yang banyak menyusahkan dan terkadang tidak menghiraukan nasehat bapak-ibu.”

Terimakasih bunda “Prof. Dr. Sri Atun” yang telah sabar mengarahkan dan membimbing saya dalam menyusun laporan Tugas Akhir Skripsi.

Terimakasih juga rekan penelitian Dessy, Gabby dan Anisa yang menemani, memberi dukungan dalam melakukan penelitian di laboratorium.

Tak lupa sahabat-sahabatku tercinta Uul, Mery, Anisa, Yulia, Depe dan adikku Dini Wahyu Utami yang selalu mensupport, mengingatkan, menemani, menghibur, mendukung serta membantu sampai akhir.

Tak lupa seluruh teman-temanku, Kimia B 2012, teman-teman kimia organik, teman-teman satu organisasi serta masih banyak lagi yang tidak dapat saya sebutkan satu per satu terimakasih atas dukungan, motivasi dan doa-doanya.

ISOLASI DAN UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN SENYAWA DALAM EKSTRAK ETANOL TEMU KUNCI (*Boesenbergia pandurata*) DENGAN METODE DPPH

Oleh:

Luthfi Fitri Frindryani

NIM. 12307141036

Pembimbing Utama : Prof. Dr. Sri Atun

ABSTRAK

Tujuan dari penelitian ini adalah menentukan aktivitas antioksidan ekstrak etanol rimpang temu kunci dan melakukan isolasi senyawa metabolit sekunder dalam ekstrak etanol pada rimpang temu kunci (*Boesenbergia pandurata*).

Penelitian ini diawali dengan membuat ekstrak kental rimpang temu kunci dengan etanol, kemudian ekstrak diuji aktivitas antioksidannya dengan metode DPPH dengan variasi konsentrasi sampel 100 µg/mL, 50 µg/mL, 25 µg/mL, 12,5 µg/mL, 6,25 µg/mL dan 3,125 µg/mL. Selain diuji aktivitas antioksidan ekstrak rimpang temu kunci juga dilakukan isolasi senyawa metabolit sekunder dan pemurnian senyawa dengan rekristalisasi menggunakan pelarut etanol, n-heksan dan aseton selanjutnya senyawa hasil isolasi dikarakterisasi menggunakan KLT, UV-Vis, IR dan H-NMR.

Hasil pengujian aktivitas antioksidan menunjukkan bahwa nilai IC₅₀ dari ekstrak etanol rimpang temu kunci adalah 92,6404 µg/mL sehingga dapat dikatakan bahwa ekstrak etanol rimpang temu kunci mempunyai tingkat aktivitas antioksidan dengan kategori kuat. Hasil isolasi senyawa ekstrak etanol temu kunci berdasarkan spektra UV-Vis mempunyai λ_{max} 287,40 nm dan 214,20 nm, spektra IR menunjukkan serapan gugus C=C aromatik pada 1571,66 cm⁻¹, C=O karbonil pada 1639,37 cm⁻¹, dan serapan C-O pada 1153,35 cm⁻¹; 1299,93 cm⁻¹; 1377,93 cm⁻¹. Data spektra H-NMR memperkirakan bahwa senyawa hasil isolasi adalah senyawa flavonoid yaitu pinostrobin.

Kata Kunci : antioksidan, DPPH, etanol, rimpang temu kunci (*Boesenbergia pandurata*), pinostrobin

**ISOLATION AND ANTIOXIDANT ACTIVITY ASSAY OF TEMU KUNCI
(*Boesenbergia pandurata*) ETHANOLIC EXTRACT BY THE DPPH
METHOD**

By:

Luthfi Fitri Frindryani

NIM. 12307141036

Supervisor : Prof. Dr. Sri Atun

ABSTRACT

The research aimed was determine the antioxidant activity of ethanol extract of temu kunci rhizome and isolation of secondary metabolite in ethanol extract of temu kunci (*Boesenbergia pandurata*) rhizome.

This research began with extraction temu kunci rhizome with ethanol 96%, then extract was tested antioxidant activity with DPPH in various concentrations of samples of 100 µg / mL , 50 µg / mL, 25 µg / mL, 12.5 µg / ml, 6.25 µg / mL and 3.125 µg / mL. Besides that the research also isolate of secondary metabolites compound purification by recrystallization with ethanol, n-hexane and acetone then isolated compounds were characterized by TLC, UV-Vis, IR and H-NMR.

The test results showed that the antioxidant activity IC₅₀ value of the ethanol extract of temu kunci rhizome was 92.6404 mg / mL. Futhermore, the ethanol extract of the temu kunci rhizomes have a activity levels of antioxidants with strong category. Isolated compounds ethanol extract based on UV-Vis spectra have λ_{max} 287.40 nm and 214.20 nm, the IR spectra showed absorption C = C aromatic group at 1571.66 cm⁻¹, C = O carbonyl at 1639.37 cm⁻¹, and the absorption of C-O at 1153.35 cm⁻¹; 1299.93 cm⁻¹; 1377.93 cm⁻¹. H-NMR spectra data estimate that the isolated compounds were flavonoid compounds as pinostrobin.

Keywords : antioxidant, DPPH, ethanol, rhizome temu kunci (*Boesenbergia pandurata*), pinostrobin

KATA PENGANTAR

Segala puji dan syukur hanya milik Allah SWT, atas limpahan rahmat dan hidayat-Nya sehingga saya dapat menyelesaikan Tugas Akhir Skripsi dengan Judul “Isolasi Dan Uji Aktivitas Antioksidan Senyawa Dalam Ekstrak Etanol Temu Kunci (*Boesenbergia pandurata*) dengan Metode DPPH”, sebagai persyaratan untuk mendapatkan gelar Sarjana Sains bidang kimia.

Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan Tugas Akhir Skripsi ini tidak lepas dari bantuan banyak pihak, oleh sebab itu saya ucapkan banyak terima kasih. Ucapan terimakasih ini saya sampaikan kepada:

1. Bapak Dr. Hartono, selaku Dekan FMIPA Universitas Negeri Yogyakarta.
2. Bapak Jaslin Ikhsan, Ph.D, selaku Ketua Jurusan Pendidikan Kimia FMIPA UNY dan Koordinator Tugas Akhir Skripsi Jurusan Pendidikan Kimia FMIPA UNY.
3. Ibu Prof. Dr. Sri Atun, selaku Pembimbing Utama dan Ketua Penguji yang selalu memberikan bimbingan, motivasi, dukungan, dan ilmu dengan penuh kesabaran serta tanpa bosan sehingga skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik
4. Prof. Dr. Nurfina Aznam Apt, selaku Penguji Utama yang telah memberikan saran dan masukan kepada penulis dalam menyusun Tugas Akhir Skripsi.
5. Siti Marwati, M. Si, selaku Sekretaris yang telah memberikan arahan, saran, dan masukan sehingga skripsi ini dapat terselesaikan.
6. Dr. Amanatie, M. Pd, M. Si, selaku Penguji Pendamping yang telah memberikan saran dan masukan sehingga skripsi ini dapat terselesaikan.

7. Bapak Rer. nat. Senam, selaku Pembimbing Akademik.
8. Seluruh Dosen dan Staff karyawan FMIPA UNY, yang selalu membantu baik langsung maupun tidak langsung dalam penyusunan Tugas Akhir Skripsi ini.
9. Bapak, Ibuk, Adik tercinta serta semua keluarga besar atas dukungan, motivasi dengan penuh kesabaran, kasih sayang dan senantiasa mendoakan.
10. Seluruh teman-teman Kimia B 2012, teman sejurusan organik dan masih banyak lagi yang tidak dapat saya sebutkan satu per satu semoga Allah membalas segala bantuan dan kebaikan kalian.

Akhir kata, saya berharap semoga skripsi ini dapat bermanfaat sebagaimana mestinya. Saya berharap banyak masukan dan saran kritik yang membangun terhadap Tugas Akhir Skripsi ini.

Yogyakarta, Juni 2016

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PERSETUJUAN.....	ii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iii
PERNYATAAN.....	iv
MOTTO	v
PERSEMBAHAN	vi
ABSTRAK	vii
ABSTRACT	viii
KATA PENGANTAR	ix
DAFTAR ISI.....	xi
DAFTAR TABEL.....	xiii
DAFTAR GAMBAR	xiv
DAFTAR LAMPIRAN.....	xv
BAB I. PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang	1
B. Identifikasi Masalah	3
C. Pembatasan Masalah	3
D. Perumusan Masalah	4
E. Tujuan	4
F. Manfaat	5
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA.....	6
A. Deskripsi Teori.....	6
1. Temu Kunci (<i>Boesenbergia pandurata</i>).....	6
2. Senyawa Metabolit Sekunder	10
3. Ekstraksi	13
4. Kromatografi Lapis Tipis (KLT).....	14
5. Spektroskopi.....	17
6. Antioksidan	23

B. Penelitian Yang Relevan	27
C. Kerangka Berfikir.....	28
BAB III. METODE PENELITIAN.....	29
A. Subjek dan Objek Penelitian	29
B. Variabel Penelitian	29
C. Alat dan Bahan Penelitian.....	29
D. Prosedur Penelitian.....	30
E. Teknik Analisis Data.....	34
BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	35
A. Hasil Penelitian	35
1. Uji Antioksidan	35
2. Isolasi Senyawa Metabolit Sekunder Ekstak Etanol Temu Kunci	38
B. Pembahasan.....	43
1. Uji Aktivitas Antioksidan.....	43
2. Isolasi Senyawa dalam Ekstrak Etanol Temu Kunci.....	45
BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN.....	52
A. Kesimpulan	52
B. Saran.....	52
DAFTAR PUSTAKA	53
LAMPIRAN	58

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Serapan Beberapa Gugus Kromofor Sederhana.....	18
Tabel 2. Serapan Khas Beberapa Gugus Fungsi Pada Spektroskopi IR	19
Tabel 3. Tipe Proton Dengan Berbagai Pergeseran Kimia	22
Tabel 4. Data Absorbansi Ekstrak Etanol Rimpang Temu Kunci	36
Tabel 5. Regresi Linier Ekstrak Etanol Rimpang Temu Kunci	37
Tabel 6. Data IC ₅₀ Ekstrak Etanol Rimpang Temu Kunci	38
Tabel 7. Analisis Spektra IR Hasil Isolasi	42
Tabel 8. Tingkat Aktivitas Antioksidan Berdasarkan Nilai IC ₅₀	45
Tabel 10. Hasil Penentuan Spektra IR	48
Tabel 11. Hasil Penentuan Spektra H ¹ -NMR.....	50

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Rimpang Temu Kunci (<i>Boesenbergia pandurata</i>) dan Tumbuhan Temu Kunci.....	6
Gambar 2. Beberapa struktur senyawa aktif pada rimpang temukunci, (1) kalkon pinosembrin, (2) kardamonin, (3) pinosembrin, (4) pinostrobin, (5) 4-hidroksi panduratin A, dan (6)panduratin A	10
Gambar 3. Kerangka dasar flavonoid.....	11
Gambar 4. Kerangka Dasar Fenilpropanoid.....	13
Gambar 5. Mekanisme Penghambatan Radikal DPPH	26
Gambar 6. Kurva Penentuan Panjang Gelombang Maksimum DPPH	37
Gambar 7. Kurva Penentuan IC ₅₀ Ekstrak Etanol Rimpang Temu Kunci	37
Gambar 8. Hasil Isolasi Ekstrak Temu Kunci.....	39
Gambar 9. KLT Senyawa Hasil Isolasi.....	40
Gambar 10. Spektra UV-Vis Hasil Isolasi	41
Gambar 11. Spektra IR Hasil Isolasi.....	41
Gambar 12. Spektra H ¹ -NMR Hasil Isolasi	42
Gambar 13. 5-hidroksi-7-metoksi flavanon (Pinostrobin)	51

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Surat Keterangan Identifikasi Tanaman	58
Lampiran 2. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum DPPH.....	59
Lampiran 2. Spektrum Uv-Vis	60
Lampiran 3. Spektrum IR.....	61
Lampiran 4. Spektrum H-NMR	61
Lampiran 5. Bagan penelitian	62
Lampiran 6. Dokumentasi.....	64

BAB I PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Indonesia merupakan negara tropis yang memiliki sumber daya alam hayati yang beranekaragam. Salah satu keanekaragaman ditemukan di Indonesia adalah pada banyaknya jenis tumbuh-tumbuhan yang memiliki berbagai manfaat antara lain sebagai antioksidan.

Antioksidan merupakan senyawa yang mampu menunda, memperlambat atau menghambat reaksi oksidasi. Studi epidemiologi menunjukkan bahwa konsumsi buah dan sayuran yang cukup akan menurunkan resiko terkena penyakit seperti kanker dan kardiovaskuler. Hal tersebut antara lain disebabkan adanya aktivitas antioksidan alami seperti vitamin C, E, betakaroten dan beberapa senyawa polifenol (Cos dkk, 2001 dalam Hertiani, 2010). Penggunaan senyawa antioksidan kini semakin berkembang seiring berkembangnya teknologi dan pengetahuan. Dunia medis kini telah mengenal antioksidan sintesis, antioksidan sintesis memiliki efektivitas yang tinggi namun kurang aman bagi kesehatan sehingga penggunaannya diawasi secara ketat (Pujimulyani, 2003 dalam Hertiani dkk, 2010). Diperlukan studi lebih lanjut agar dapat mengurangi dampak negatif dari penggunaana senyawa sintesis salah satunya denga cara mempelajari tumbuhan-tumbuhan yang berpotensi sebagai antioksidan.

Penentuan aktivitas antioksidan suatu zat dapat dilakukan dengan berbagai metode antara lain seperti metode Asam Tiobarbiturat (TBA),

metode DPPH (*2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl*) dan metode Tiosianat. Masing-masing metode penentuan memiliki kekurangan dan kelebihan. Metode DPPH merupakan metode yang sederhana, cepat, dan mudah untuk menentukan aktivitas antioksidan. DPPH adalah radikal bebas, stabil pada suhu kamar, yang menghasilkan senyawa ungu dalam etanol.

Berdasarkan penelitian Atta-ur-rahman dalam Erawati (2012) senyawa-senyawa yang berpotensi sebagai antioksidan umumnya merupakan senyawa flavonoid, fenolat, dan alkaloid. Senyawa flavonoid dan polifenolat bersifat antioksidan, antidiabetik, antikanker, antiseptik, dan antiinflamasi, sedangkan alkaloid mempunyai sifat antineoplastik yang juga mampu menghambat pertumbuhan sel-sel kanker. Berdasarkan penelitian Sri Atun (2011), tanaman spesies *Zingiberaceae* merupakan tanaman rimpang yang memiliki senyawa berpotensi sebagai antioksidan. Salah satunya adalah temu kunci (*Boesenbergia pandurata*). Temu kunci (*Boesenbergia pandurata*) merupakan tanaman obat tradisional yang digunakan masyarakat sebagai obat nyeri, obat peluruh dahak, obat cacing, dan penambah nafsu makan. Temu kunci mudah didapatkan dengan harga yang murah dan mudah dibudidayakan

Bagian dari tanaman temu kunci yang biasa dimanfaatkan adalah bagian daun dan rimpang. Berdasarkan hal tersebut dapat diketahui bahwa terdapat beberapa senyawa yang terkandung dalam daun ataupun rimpangnya. Beberapa penelitian tentang bagian rimpang temu kunci telah dilakukan salah satunya seperti penelitian yang dilakukan Ching A.Y.L (2007) berhasil

mengisolasi flavonoid yang merupakan senyawa metabolit sekunder dari rimpang temu kunci.

Penelitian bertujuan untuk mengisolasi dan menguji aktivitas antioksidan dari ekstrak rimpang temu kunci. Ekstrak rimpang temu kunci diperoleh dengan memaserasi serbuk rimpang temu kunci dengan etanol 96%. Ekstrak etanol 96% yang diperoleh digunakan untuk uji aktivitas antioksidan dan mengisolasi senyawa metabolit sekunder.

B. Identifikasi Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah dikemukakan, maka dapat diidentifikasi beberapa masalah sebagai berikut :

1. Bagian tumbuhan temu kunci yang akan diuji kandungan senyawa dan nilai aktivitas antioksidannya
2. Metode yang digunakan untuk ekstraksi senyawa metabolit sekunder dari rimpang temu kunci (*Boesenbergia pandurata*).
3. Metode yang digunakan untuk isolasi dan identifikasi senyawa metabolit sekunder dari rimpang temu kunci (*Boesenbergia pandurata*).
4. Metode yang digunakan untuk uji aktivitas antioksidan.

C. Pembatasan Masalah

Pada penelitian ini masalah dibatasi pada permasalahan berikut untuk menutupi kemungkinan masalah yang melebar.

1. Bagian tumbuhan temu kunci yang akan diuji kandungan senyawa dan nilai aktivitas antioksidannya adalah rimpang temu kunci kering (*Boesenbergia pandurata*).
2. Metode yang digunakan untuk mengestrak rimpang temu kunci (*Boesenbergia pandurata*) yakni ekstraksi dengan pelarut etanol teknis 96%.
3. Pemurnian senyawa metabolit sekunder hasil isolasi dengan rekristalisasi dengan pelarut etanol dan n-heksan kemudian diidentifikasi dengan KLT, spektroskopi UV-Vis, IR, dan H-NMR.
4. Metode yang digunakan untuk uji aktivitas antioksidan adalah metode DPPH.

D. Perumusan Masalah

Permasalahan yang diajukan dalam penelitian ini dapat dirumuskan sebagai berikut :

1. Berapa nilai aktivitas antioksidan pada ekstrak etanol rimpang temu kunci (*Boesenbergia pandurata*) dengan metode DPPH?
2. Apa senyawa metabolit sekunder hasil isolasi dari ekstrak etanol pada rimpang temu kunci (*Boesenbergia pandurata*)?

E. Tujuan

Adapun tujuan dari penelitian ini adalah :

1. Menentukan nilai aktivitas antioksidan ekstrak etanol rimpang temu kunci (*Boesenbergia pandurata*) dengan metode DPPH.

2. Mengetahui metode isolasi senyawa metabolit sekunder dalam ekstrak etanol pada rimpang temu kunci (*Boesenbergia pandurata*).

F. Manfaat

1. Memberikan informasi mengenai aktivitas antioksidan ekstrak rimpang temu kunci pada rimpang temu kunci (*Boesenbergia pandurata*) sehingga dapat dimanfaatkan sebagai obat herbal penangkal radikal bebas.
2. Memberikan informasi mengenai hasil isolasi senyawa metabolit sekunder pada temu kunci (*Boesenbergia pandurata*) sehingga dapat digunakan sebagai penuntun pembuatan obat modern.
3. Sebagai salah satu referensi/perbandingan dalam penelitian lebih lanjut.

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

A. Deskripsi Teori

1. Temu Kunci (*Boesenbergia pandurata*)

Temu kunci (*Boesenbergia pandurata*) merupakan salah satu tanaman yang sering digunakan untuk bumbu dapur dan memiliki khasiat obat yang bervariasi. Rimpang temu kunci berada dalam tanah dengan panjang rimpang 5-30 cm. Hidup di iklim tropis dan lembab. Tanah yang becek dan terlalu banyak air tidak baik untuk pertumbuhan temu kunci. Umumnya berdaun 2-7 helai, daun bagian bawah berwarna merah dan helai daunnya berwarna hijau muda.



Gambar 1. Rimpang Temu Kunci (*Boesenbergia pandurata*) dan Tumbuhan Temu Kunci

a. Klasifikasi

Kedudukan tanaman temu kunci dalam sistem tumbuhan diklasifikasikan sebagai berikut :

Kingdom	: Plantae (Tumbuhan)
Subkingdom	: Tracheobionta (Tumbuhan berpembuluh)
Super Divisi	: Spermatophyta (Menghasilkan biji)
Divisi	: Magnoliophyta (Tumbuhan berbunga)
Kelas	: Liliopsida (berkeping satu / monokotil)
Sub Kelas	: Commelinidae
Ordo	: Zingiberales
Famili	: Zingiberaceae (suku jahe-jahean)
Genus	: <i>Boesenbergia</i>
Spesies	: <i>Boesenbergia pandurata</i> (Roxb.) Schlecht

(Plantamor, 2016)

b. Kegunaan

Di masyarakat luas temu kunci telah dimanfaatkan sebagai obat alternatif antara lain untuk beberapa penyakit sebagai berikut:

- 1) Rimpang temu kunci berguna untuk meluruhkan dahak.
- 2) Rimpang temu kunci berguna untuk menambah nafsu makan.
- 3) Rimpang temu kunci berguna untuk obat sakit perut
- 4) Rimpang temu kunci berguna untuk melancarkan kencing.
- 5) Rimpang temu kunci berguna untuk obat gatal

6) Rimpang temu kunci berguna untuk obat kurap.

c. Morfologi

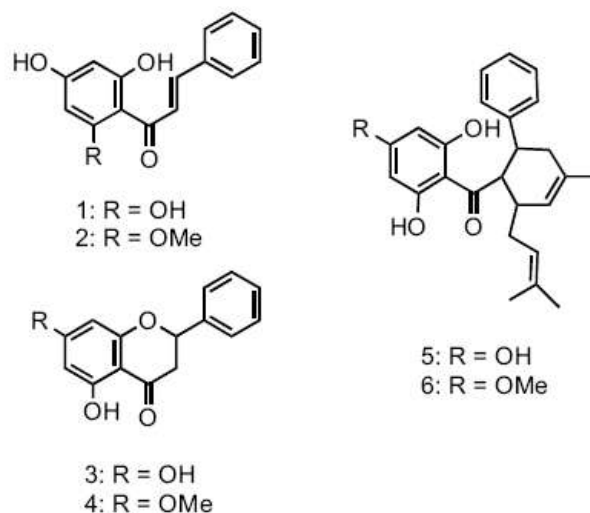
Temu kunci berperawakan herba rendah, merayap di dalam tanah. Dalam satu tahun pertumbuhannya 0,3-0,9 cm. Batangnya merupakan batang asli di dalam tanah sebagai rimpang, berwarna kuning coklat, aromatik, menebal, berukuran 5-30 x 0,5-2 cm. Batang di atas tanah berupa batang semu (pelepah daun). Daun tanaman ini pada umumnya 2-7 helai, daun bawah berupa pelepah daun berwarna merah tanpa helaian daun. Tangkai daun tanaman ini beralur, tidak berambut, panjangnya 7-16 cm, lidah-lidah berbentuk segitiga melebar, menyerupai selaput, panjang 1-1,5 cm, pelepah daun sering sama panjang dengan tangkai daun; helai daunnya tegak, bentuk lanset lebar atau agak jorong, ujung daun runcing, permukaan halus tetapi bagian bawah agak berambut terutama sepanjang pertulangan, warna helai daun hijau muda, lebarnya 5-11 cm. Bunga tanaman ini berupa susunan bulir tidak terbatas, di ketiak daun, dilindungi oleh 2 spatha, panjang tangkai 41 cm, umumnya tangkai tersembunyi dalam 2 helai daun terujung. Kelopak bunganya 3 buah lepas, runcing. Mahkota bunganya 3 buah, warnanya merah muda atau kuning-putih, berbentuk tabung 50-52 mm, bagian atas tajuk berbelah-belah, berbentuk lanset dengan lebar 4 mm dan panjang 18 mm. Benang sarinya 1 fertil besar, kepala sarinya bentuk garis membuka secara memanjang. Lainnya berupa bibir-bibir (staminodia) bulat telur terbalik tumpul, merah muda atau kuning lemon, gundul, 6 pertulangan, dan

ukurannya 25×7 cm. Putik bunganya berupa bakal buah 3 ruang, banyak biji dalam setiap ruang.

Tanaman ini banyak tumbuh dari daerah tropis dataran rendah. Waktu berbunganya pada bulan Januari-Februari dan April-Juni. Daerah distribusi dan habitat tanaman ini adalah tumbuh liar pada dataran rendah, di hutan-hutan jati. Tanaman ini tumbuh baik pada iklim panas dan lembab pada tanah yang relatif subur dengan pertukaran udara dan tata air yang baik. Pada tanah yang kurang baik tata airnya (sering tergenang air, atau becek pertumbuhan akan terganggu dan rimpang cepat busuk) (Plantus, 2008). Penanaman temu kunci dapat dilakukan dengan pemotongan rimpang menjadi beberapa bagian (tiap bagian terdapat paling sedikit 2 mata tunas) dan dilakukan pada jarak tanam 3000 cm.

d. Komposisi

Komponen-komponen kimia tanaman temu-kunci ditemukan pada bagian rizoma. Menurut Kardono (2003), senyawa-senyawa aktif pada temu kunci terdiri atas flavanon (pinostrobin, pinosembrin, alpinetin, dan 5,7-dimetoksiflavanon), flavon (dimetoksiflavan dan 3',4',5,7-tetrametoksi flavon), kalkon (2',6'-dihidroksi-4'- metoksikalkon, kardamo- nin, panduratin A, panduratin B, boesenbergin A, boesenbergin B, dan rubranin), monoterpena (geranial dan neral), dan diterpena (asam pimarat). Beberapa struktur senyawa aktif temu kunci ditunjukkan pada gambar 2.



Gambar 2. Beberapa struktur senyawa aktif pada rimpang temukunci, (1) kalkon pinosembrin, (2) kardamonin, (3) pinosembrin, (4) pinostrobin, (5) 4- hidroksi panduratin A, dan (6) panduratin A

2. Senyawa Metabolit Sekunder

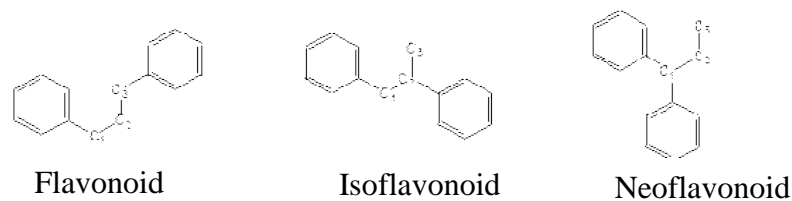
Senyawa metabolit sekunder merupakan senyawa kimia yang umumnya mempunyai kemampuan bioaktivitas dan berfungsi sebagai pelindung tumbuhan dari gangguan hama penyakit untuk tumbuhan itu sendiri atau lingkungannya. Senyawa kimia sebagai hasil metabolit sekunder telah banyak digunakan untuk zat warna, racun, aroma makanan, obat-obatan dan sebagainya (Setiana, 2011). Beberapa senyawa metabolit sekunder juga termasuk dalam senyawa bioaktif karena senyawa metabolit sekunder mempunyai efek fisiologis yang berpengaruh positif terhadap tubuh manusia.

a. Flavonoid

Flavonoid merupakan senyawa polifenol yang mempunyai 15 atom karbon. Flavonoid terdapat dalam semua tumbuhan hijau sehingga dapat

ditemukan pada setiap ekstrak tumbuhan (Markham, 1988). Selama ini tercatat lebih dari 2000 jenis flavonoid yang berasal dari tumbuhan telah diidentifikasi oleh para ahli. Sejumlah flavonoid mempunyai rasa pahit hingga dapat bersifat menolak sejenis ulat tertentu.

Golongan flavonoid dapat digambarkan sebagai deretan senyawa C₆-C₃-C₆, artinya kerangka karbonnya terdiri atas dua gugus C₆ (cincin benzena tersubstitusi) disambungkan oleh rantai alifatik tiga karbon (Robinson, 1995). Susunan kerangka flavonoid dapat dibedakan menjadi 3 jenis struktur yakni flavonoid, isoflavonoid, dan neoflavonoid yang ditunjukkan pada gambar 3 (Arifin, 1986).



Gambar 3. Kerangka dasar flavonoid

Biosintesa pertama kali disarankan oleh Birch. Untuk tahap awal dari biosintesa yakni, suatu unit C₆-C₃ berkombinasi dengan tiga buah unit C₂ sehingga menghasilkan unit C₆-C₃-(C₂+C₂+C₂). Kerangka C₁₅ yang dihasilkan dari kombinasi ini telah mengandung gugus-gugus fungsi oksigen pada posisi yang diperlukan.

b. Terpenoid

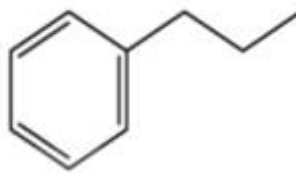
Terpenoid merupakan salah satu golongan senyawa metabolit sekunder yang mendapatkan tempat tersendiri dalam kimia organik karena kelimpahannya, mudah diisolasi. Komposisi yang relatif sederhana dan

mudah dikenal. Kebanyakan senyawa terpenoid terdapat bebas dalam jaringan tanaman, tidak terikat dengan senyawa-senyawa lain, tetapi banyak dari mereka yang terdapat sebagai glikoksida, ester dari asam organik dan dal beberapa hal terikat dengan protein. Terpenoid dengan nomor atom karbon rendah (C₅, C₁₀, dan C₁₅) mudah diperoleh dengan cara destilasi uap, sedangkan terpenoid dengan nomor atom karbon lebih tinggi (C₂₀ atau lebih) biasanya diisolasi dengan cara ekstraksi pelarut kemudian dipisahkan dan dimurnikan dengan kristalisasi, distilasi dan kromatografi. Terpenoid diklasifikasikan sesuai dengan jumlah atom karbon yang terkandung di dalamnya, C₅ = monoterpen, C₁₀ = sesquiterpen, C₁₅ = diterpen, C₂₀ = sesterpen, C₃₀ = triterpen, C₄₀ = tetraterpen dan C >40 = politerpen.

c. Fenilpropanoid

Fenilpropanoid merupakan senyawa fenol di alam yang mempunyai cincin aromatik dengan rantai samping terdiri dari 3 atom karbon. Golongan fenil propanoid yang paling tersebar luas adalah asam hidroksi sinamat, yaitu suatu senyawa yang merupakan bangunan dasar lignin. Empat macam asam hidroksi sinamat banyak terdapat dalam tumbuhan. Keempat senyawa tersebut yaitu asam ferulat, sinapat, kafeat dan p-kumarat.

Senyawa fenilpropanoid merupakan salah satu kelompok senyawa fenol utama yang berasal dari jalur shikimat. Senyawa fenol ini mempunyai kerangka dasar karbon yang terdiri dari cincin benzena (C₆) yang terikat pada ujung rantai karbon propana (C₃) (Lenny, 2006). Kerangka dasar fenilpropanoid ditunjukkan pada gambar 4.



Gambar 4. Kerangka Dasar Fenilpropanoid

3. Ekstraksi

Ekstraksi adalah pemisahan satu atau beberapa bahan dari suatu padatan atau cairan dengan bantuan pelarut. Ekstraksi juga merupakan proses pemisahan satu atau lebih komponen dari suatu campuran homogen menggunakan pelarut cair (solven) sebagai *separating agen*. Ekstraksi pada padatan digunakan untuk memisahkan senyawa hasil alam dari jaringan kering tumbuhan, mikroorganisme dan hewan. Metode ekstraksi ditentukan oleh tekstur, kandungan air bahan yang akan diekstrak dan senyawa yang akan diisolasi.

Proses ekstraksi biasanya dimulai dengan menggunakan pelarut organik dengan tingkat kepolaran rendah dan kemudian secara bertingkat dilanjutkan dengan pelarut yang lebih polar. Pelarut yang digunakan adalah n-heksan, eter, petroleum eter atau kloroform untuk mengambil senyawa yang kepolarannya rendah, selanjutnya digunakan pelarut yang lebih polar seperti alkohol dan etil asetat untuk mengambil senyawa-senyawa yang lebih polar. Pemilihan pelarut berdasarkan pada kaidah “*like dissolve like*” (Kristanti dkk, 2008).

Metode ekstraksi senyawa yang umum digunakan, yaitu metode ekstraksi secara dingin dan ekstraksi secara panas. Contoh ekstraksi secara

dingin antara lain metode maserasi dan perkolasi. Contoh ekstraksi secara panas antara lain metode refluks dan destilasi uap (Indraswari, 2008).

Metode ekstraksi yang paling sederhana adalah metode maserasi yang dilakukan dengan cara merendam padatan dalam suatu pelarut dengan tujuan untuk mengekstrak suatu senyawa dari bahan alam yang dilakukan tanpa pemanasan (temperatur kamar). Salah satu keuntungan metode maserasi adalah cepat. Waktu rendam bahan dalam pelarut bervariasi antara 15-30 menit sampai 24 jam. Kelemahan dari metode ini adalah jumlah pelarut yang diperlukan cukup besar (Kristanti dkk, 2008)

4. Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Kromatografi Lapis Tipis (KLT) merupakan metode pemisahan komponen-komponen atas dasar perbedaan adsorpsi atau partisi oleh fase diam dipisahkan oleh gerakan pelarut pengembang. Teknik kromatografi lapis tipis dikembangkan oleh Ismailoff dan Schraibar pada tahun 1938. Adsorben dilapiskan pada lempeng kaca yang bertindak sebagai fase diam. Fase bergerak akan menyerap sepanjang fase diam dan terbentuklah kromatogram. Pemilihan sistem pelarut dan komposisi lapisan tipis ditentukan oleh prinsip kromatografi yang akan digunakan. Biasanya yang sering digunakan sebagai materi pelapisnya adalah silika gel, bubuk selulosa, tanah diatome dan kieselguhr (Hardjono, 2001). Daya serap adsorben terhadap komponen-komponen kimia tidak sama satu sama lain, hal ini menyebabkan senyawa kimia dapat bergerak dengan kecepatan yang berbeda berdasarkan tingkat kepolarannya, sehingga menyebabkan terjadinya pemisahan.

Kromatografi Lapis Tipis merupakan metode pemisahan yang paling populer dan banyak digunakan karena memberikan banyak keuntungan diantaranya yaitu peralatan yang dibutuhkan sederhana, murah, waktu analisis singkat dan daya pisah yang cukup baik serta sampel yang dibutuhkan sedikit (Sudjadi, 2008).

Pemilihan eluen (fase gerak) yang tepat merupakan langkah penting dalam keberhasilan analisis menggunakan KLT. Pemilihan ini didasarkan pada prinsip “*like dissolve like*”. Eluen dipilih sebaiknya menggunakan campuran pelarut organik yang mempunyai polaritas serendah mungkin, hal ini untuk mengurangi serapan dari setiap komponen dari campuran pelarut. Jika komponen-komponen yang mempunyai sifat polar tinggi (misalnya air) dalam campuran akan merubah sistem menjadi sistem partisi. Campuran yang baik memberikan fasa gerak yang mempunyai kekuatan bergerak sedang, tetapi sebaiknya dihindari mencampur lebih dari dua komponen terutama karena campuran yang lebih kompleks cepat mengalami perubahan-perubahan fasa terhadap perubahan-perubahan suhu (Hardjono, 2001).

Teknik pengembangan dapat dilakukan dari bawah ke atas (*ascending*), dari atas ke bawah (*descending*) atau mendatar. Bila eluen mencapai garis batas plat kromatogram, jangan terlalu lama mencelupkan plat tersebut. Hal ini dikarenakan pengaruh difusi dan penguapan dapat menyebabkan pemancaran dari noda-noda yang terpisah. Selanjutnya noda pada lapisan tipis diamati langsung untuk noda tampak. Jika noda tidak tampak dapat dilihat

dengan lampu UV pada panjang gelombang 254 nm dan 366 nm juga dapat dilihat dengan menggunakan pereaksi semprot penimbul warna.

Setelah noda dikeringkan dan divisualisasi, identitas noda dinyatakan dengan harga Rf (*Retardation factor*) merupakan rasio jarak noda terhadap titik awal dibagi jarak eluen terhadap titik awal. Secara matematis dapat dituliskan :

$$Rf = \frac{l}{h}$$

Dengan l = jarak noda dari titik awal ke titik akhir setelah proses pengembangan dan h = jarak eluen dari titik awal ke batas akhir eluen. Harga Rf berkisar 0 – 0,999.

Faktor-faktor yang mempengaruhi gerakan noda dalam KLT yang juga mempengaruhi harga Rf (Hardjono, 2001) adalah :

- 1) Struktur senyawa yang dipisahkan.
- 2) Sifat adsorben dan derajat aktivitasnya. Perbedaan adsorben memberikan perbedaan yang besar terhadap harga Rf.
- 3) Tebal dan kerapatan lapisan adsorben.
- 4) Pelarut fasa gerak (dan tingkat kemurniannya).
- 5) Derajat kejenuhan dan uap dalam bejana pengembangan yang digunakan.
- 6) Teknik percobaan dapat dilakukan dari bawah ke atas (*ascending*), dari atas ke bawah (*descending*) atau mendatar.

- 7) Jumlah cuplikan yang digunakan. Penetesan jumlah cuplikan yang berlebihan memberikan tendensi penyebab noda-noda dengan kemungkinan terbentuknya ekor.
- 8) Suhu, untuk mencegah perubahan-perubahan dalam komposisi pelarut yang disebabkan oleh penguapan-penguapan atau perubahan-perubahan fasa.

5. Spektroskopi

a. Spektroskopi UV-Vis

Panjang gelombang dari cahaya UV dan Visibel, lebih pendek dari pada panjang gelombang radiasi inframerah. Satuan yang digunakan dalam spektra ini adalah nanometer ($1 \text{ nm} = 10^{-7} \text{ cm}$). Spektrum sinar tampak(sinar yang tampak oleh mata manusia) memiliki rentang antara 400-800 nm sedangkan spektrum sinar UV berada pada rentang sekitar 200-400 nm (Achmadi, 2003).

Absorpsi cahaya UV dan cahaya tampak mengakibatkan terjadinya transisi elektronik, yaitu perpindahan elektron-elektron dari orbital keadaan dasar yang berenergi rendah menuju orbital keadaan tereksitasi yang berenergi lebih tinggi. Transisi ini memerlukan energi sekitar 40-300 kkal/mol. Panjang gelombang cahaya UV dan Visibel bergantung pada mudahnya perpindahan elektron tersebut. Molekul yang memerlukan lebih banyak energi untuk terjadinya perpindahan elektron, akan menyerap pada panjang gelombang yang lebih pendek (Fessenden & Fessenden, 1997). Absorbansi radiasi oleh senyawa diukur detektor pada berbagai panjang gelombang dan diinformasikan ke perekam untuk menghasilkan spektrum. Spektrum ini

berguna untuk memberikan informasi penting untuk identifikasi adanya gugus kromofor (Hendayana, 1994).

Tabel 1. Serapan Beberapa Gugus Kromofor Sederhana

Gugus Kromofor	λ_{maks} (nm)
C=C	175
C=O	160, 185 dan 280
C=C-C=C	217
C=C-C=O	220 dan 315
Benzena	184, 204 dan 225
Flavon	310-350(pita I); 250-280(pita II)
Flavanon dan dihidroflavanol	300-330(pita I); 275-295(pita II)
Khalkon	340-390(pita I); 230-270(pita II)
Isoflavon	310-330(pita I); 245-275(pita II)
Auron	380-430(pita I); 230-270(pita II)

(Markham, 1988)

Gugus kromofor merupakan gugus tak jenuh kovalen (ikatan π) yang dapat menyerap radiasi dalam daerah-daerah ultraviolet dan sinar tampak (Hardjono, 2001). Spektrum UV umumnya digunakan untuk mendeteksi adanya gugus kromofor dan ikatan yang terkonjugasi, yaitu adanya ikatan rangkap yang berselang seling. Pada umumnya, molekul tanpa ikatan rangkap tidak akan menyerap sinar pada daerah UV, sedangkan senyawa yang mempunyai sistem terkonjugasi akan menyerap sinar pada daerah UV. Semakin banyak konjugasi maka akan semakin panjang gelombang dari serapan maksimumnya (Achmadi, 2003). Serapan beberapa kromofor

sederhana dan panjang gelombang maksimum masing-masing kromofor ditunjukkan pada tabel 1.

b. Spektroskopi IR

Bila sinar inframerah dilewatkan melalui cuplikan senyawa organik, maka sejumlah frekuensi akan diserap dan frekuensi yang lain diteruskan atau ditransmisikan tanpa diserap. Penggunaan spektroskopi inframerah pada bidang kimia organik hampir menggunakan daerah dari $650 - 4000 \text{ cm}^{-1}$ ($15,4 - 2,5 \text{ }\mu\text{m}$). Daerah dengan frekuensi lebih rendah 650 cm^{-1} disebut inframerah jauh dan daerah frekuensi lebih tinggi dari 4000 cm^{-1} disebut inframerah dekat (Hardjono, 2001). Spektrum IR diperoleh dengan mengalurkan antara persen transmitansi atau persen absorbansi dengan frekuensi. Serapan khas beberapa gugus fungsi ditunjukkan pada tabel 2.

Tabel 2. Serapan Khas Beberapa Gugus Fungsi Pada Spektroskopi IR

Jenis ikatan	Gugus	Golongan senyawa	Kisaran frekuensi
Ikatan tunggal dengan hidrogen	C-H	Alkana	2850-3000
	=C-H	Alkena	3020-3080
		Aromatik	3000-3100
	O-H	Alkohol dan fenol	3500-3700 (bebas) 3200-3500(ikatan hidrogen)
	O-H	Asam karboksilat	2500-3000
Ikatan rangkap	C=C	Alkena	1600-1700
		Aromatik	1450-1600
	C=O	Aldehida, keton, ester dan asam karboksilat	1650-1780

(Achmadi, 2003)

Spektrum IR ini digunakan untuk elusidasi atau mengenal struktur molekul khususnya gugus fungsional dari suatu senyawa organik maupun anorganik beserta lingkungannya. Hampir semua senyawa organik maupun anorganik yang memiliki ikatan kovalen akan menyerap daerah frekuensi radiasi elektromagnetik dalam spektrum IR. Serapan tiap tipe ikatan (N-H, C-H, O-H, C-X, C=O, C-O, C-C, C=C dan sebagainya) hanya diperoleh dalam bagian-bagian kecil tertentu dari daerah vibrasi inframerah. Kisaran serapan yang kecil ini dapat digunakan untuk menentukan setiap tipe ikatan. (Sulastrid dan Kristianingrum, 2003).

c. Spektroskopi NMR

Resonansi magnetik inti ^1H -NMR memberikan keterangan tentang jenis atom hidrogen, jumlah setiap tipe hidrogen, juga memberikan keterangan tentang sifat lingkungan dari tiap tipe hidrogen tersebut. Dalam identifikasi senyawa organik, gabungan data IR dengan NMR sering cukup untuk menentukan struktur molekul senyawa organik yang tidak diketahui (Hardjono, 2001).

Spektroskopi NMR didasarkan pada penyerapan gelombang radio oleh inti-inti tertentu dalam molekul organik, apabila molekul tersebut berada dalam medan magnet yang kuat. Kegunaan Resonansi Magnet Inti (NMR) adalah karena tidak setiap proton dalam molekul beresonansi pada frekuensi yang identik sama. Fakta menunjukkan proton-proton dalam molekul dilindungi oleh elektron-elektron dengan lingkungan elektronik (kimia) yang sedikit berbeda sehingga mengakibatkan frekuensi resonansi yang sedikit

berbeda. Perbedaan dalam frekuensi resonansi tersebut sangat kecil, akibatnya sangat sukar mengukur secara tepat frekuensi resonansi setiap proton. Namun perbedaan frekuensi tersebut dapat diukur langsung dengan menambahkan senyawa standar frekuensi dalam larutan senyawa yang diukur. Frekuensi setiap proton dalam cuplikan diukur relative terhadap frekuensi resonansi dari proton-proton senyawa standar.

Senyawa standar yang umum digunakan adalah tetrametilsilan, $(\text{CH}_3)_4\text{Si}$ atau TMS. Senyawa ini dipilih karena proton-proton dari gugus metil jauh lebih terlindungi dibandingkan dengan kebanyakan senyawa-senyawa lain. Hal ini disebabkan silikon yang elektropositif mendorong elektron ke gugus metil melalui efek induksi sehingga memberikan perlindungan yang sangat kuat (Hardjono, 2001). Selain itu, TMS dipilih karena memberikan puncak tunggal dan tajam yang kuat meskipun digunakan pada konsentrasi rendah. Hal ini disebabkan 12 proton pada TMS yang ekuivalen. TMS bersifat inert, memiliki titik didih rendah sehingga mudah diuapkan untuk memperoleh kembali cuplikannya, dan TMS juga dapat larut dalam kebanyakan pelarut organik (Kemp, 1999).

Resonansi yang tercatat dalam pengertian seberapa jauh Hz proton dalam cuplikan digeser dari proton TMS. Harga pergeseran Hz dari TMS ini disebut dengan pergeseran kimia (δ). Besarnya pergeseran kimia (δ) dihitung dengan persamaan :

$$\delta = \frac{\text{Pergeseran dalam Hz}}{\text{Frekuensi spektrometer dalam MHz}}$$

Ada empat langkah untuk menginterpretasi spektrum $^1\text{H-NMR}$, meliputi:

- 1) Jumlah sinyal, menerangkan ada berapa macam perbedaan dari proton-proton yang terdapat dalam molekul.
- 2) Kedudukan sinyal, menerangkan lingkungan elektronik setiap macam proton yang ditunjukkan oleh geseran kimia (δ) ppm serta jenis proton.
- 3) Intensitas sinyal, menerangkan banyaknya jumlah proton dari setiap macam proton yang ada.
- 4) Pemecahan (*splitting*) dari sebuah sinyal menjadi beberapa puncak, yang menerangkan lingkungan dari sebuah proton dengan proton lainnya yang berdekatan

Adapun beberapa korelasi antara tipe proton dengan berbagai pergeseran kimianya terdapat pada tabel 3.

Tabel 3. Tipe Proton Dengan Berbagai Pergeseran Kimia

Jenis proton	δ (ppm)	Jenis Proton	δ (ppm)
C-CH ₃	0,85-0,95	-CH ₂ =C	4,6-5,0
C-CH ₂ -C	1,20-1,35	-C=CH	5,0-5,7
CH ₃ -C=C	1,6-1,9	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \\ \text{-C-H} \end{array}$	9,5-9,7
$\begin{array}{c} \text{CH}_3\text{-C=O} \\ \\ \text{C} \end{array}$	2,1-2,6	R-OH	0,5-5,5
CH ₃ -O-	3,5-3,8	Ar-OH	4-8

(Achmadi, 2003)

6. Antioksidan

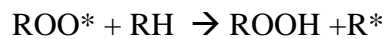
Radikal dapat terbentuk dari pemutusan ikatan kovalen yang masing-masing radikalnya tetap mempertahankan satu elektron yang disebut reaksi homolisis. Radikal bebas merupakan molekul yang sangat reaktif karena memiliki elektron yang tidak berpasangan di dalam orbital luarnya sehingga dapat bereaksi dengan molekul sel tubuh dengan cara mengikat elektron molekul sel tersebut (Wijaya, 1996). Kereaktifan radikal bebas dipengaruhi adanya elektron tidak berpasangan. Apabila dua radikal bebas bertemu, elektron tidak berpasangan tersebut akan bergabung membentuk ikatan kovalen sehingga akan menyebabkan energinya berkurang. Ketika radikal bebas bereaksi dengan senyawa non-radikal, radikal baru akan terbentuk dan reaksi berantai dapat terjadi (Halliwell dan Gutteridge, 1999). Reaksi berantai dalam tubuh dapat merusak struktur sel bila tidak dihentikan akan menimbulkan berbagai penyakit seperti kanker, jantung, katarak, penuaan dini, serta penyakit degeneratif lainnya (Herry, 2014)

Untuk meredam aktivitas radikal bebas maka diperlukan antioksidan. Antioksidan merupakan suatu zat yang dapat menetralkan radikal bebas yang terjadi di dalam tubuh sehingga dapat melindungi sistem biologi tubuh dari hal-hal merugikan yang timbul dari proses ataupun reaksi yang menyebabkan oksidasi yang berlebih (Hariyatmi, 2004). Menurut Widjaya (2003), antioksidan dinyatakan sebagai senyawa yang dapat memperlambat oksidasi, walaupun dengan konsentrasi yang lebih rendah sekalipun dibandingkan dengan substrat yang dapat dioksidasi, menetralkan radikal bebas dan

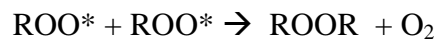
mencegah kerusakan sel normal, protein, dan lemak yang ditimbulkan oleh radikal bebas. Antioksidan melengkapi kekurangan elektron pada radikal bebas menjadikan radikal bebas stabil dan menghambat terjadinya reaksi berantai radikal bebas yang dapat menimbulkan oksidasi.

Reaksi berantai pada radikal bebas (tanpa ada antioksidan) terdiri dari tiga tahap, yaitu: Tahap inisiasi : $RH \rightarrow R^* + H^*$

Tahap propagasi : $R^* + O_2 \rightarrow ROO^*$



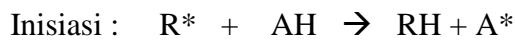
Tahap terminasi : $R^* + R^* \rightarrow R - R$



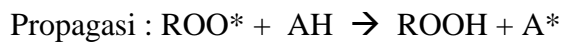
Pada tahap inisiasi terjadi pembentukan radikal bebas (R^*) yang sangat reaktif, karena (RH) melepaskan satu atom hidrogen, hal ini dapat disebabkan adanya cahaya, oksigen atau panas. Pada tahap propagasi, radikal (R^*) akan bereaksi dengan oksigen membentuk radikal peroksi (ROO^*). Radikal peroksi selanjutnya akan menyerang RH (misalnya pada asam lemak) menghasilkan hidroperoksida dan radikal baru. Hidrogen peroksida yang terbentuk bersifat tidak stabil dan akan terdegradasi menghasilkan senyawa-senyawa karbonil rantai pendek seperti aldehida dan keton (Nugroho, 2007).

Tanpa adanya antioksidan, reaksi oksidasi lemak akan berlanjut sampai tahap terminasi, sehingga antar radikal bebas dapat saling bereaksi membentuk senyawa yang kompleks.

Dengan adanya antioksidan, antioksidan memberikan atom hidrogen atau elektron pada radikal bebas (R^* , ROO^*), mengubahnya ke bentuk yang lebih stabil RH . Sementara turunan radikal antioksidan (A^*) memiliki keadaan lebih stabil dibanding radikal semula R^* . Reaksi penghambatan antioksidan terhadap radikal lipid mengikuti persamaan reaksi sebagai berikut (Yuswantina; Aulia, 2009) :



Radikal lipida



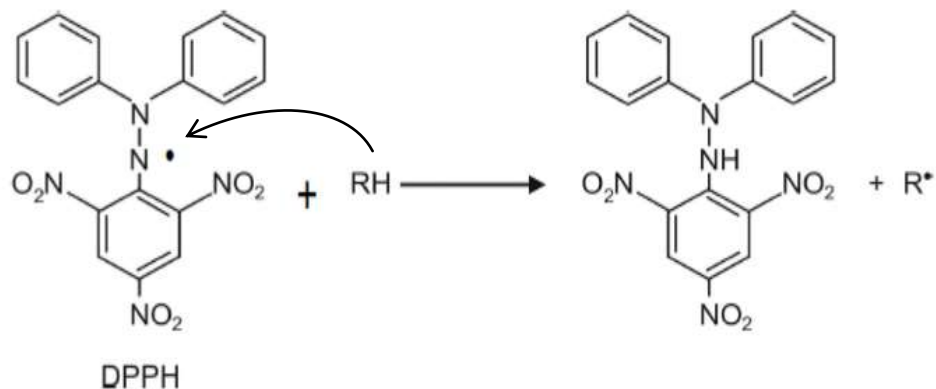
Antioksidan dikelompokkan menjadi dua kelompok, yaitu antioksidan primer atau alami dan antioksidan sekunder atau sintetis (Cahyadi, 2006). Antioksidan alami banyak terdapat pada tumbuh-tumbuhan, sayuran, dan buah-buahan (Winarsih, 2007), sedangkan yang termasuk antioksidan sintetis yaitu butil hidroksilanisol (BHA), butil hidroksitoluen (BHT), propilgallat, dan etoksiquin (Cahyadi, 2006).

7. Uji Aktivitas Antioksidan Metode DPPH (*2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl*)

Berbagai metode pengukuran aktivitas antioksidan telah digunakan untuk mengamati dan membandingkan aktivitas antioksidan. Salah satu metode pengukuran aktivitas antioksidan yang cepat dan sederhana adalah metode DPPH (*2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl*). Metode DPPH(*2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl*) digunakan untuk menguji kemampuan suatu senyawa untuk

bertindak sebagai penangkap radikal bebas atau pendonor hidrogen sehingga aktivitas suatu senyawa dapat dihitung.

DPPH(2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) adalah suatu radikal bebas yang cukup stabil dengan memberikan warna ungu yang diserap pada panjang gelombang 517 nm. Menurut Miliauskas (2003), ketika radikal DPPH(2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) bereaksi dengan suatu senyawa antioksidan yang dapat mendonorkan radikal hidrogen, radikal DPPH(2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) akan terus tereduksi membentuk DPPH-H. Warna berubah dari ungu menjadi kuning terjadi ketika elektron radikal bebas DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) berpasangan dengan sebuah hidrogen dari penangkap radikal bebas suatu antioksidan. Mekanisme penghambatan radikal DPPH(2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) dapat dilihat pada gambar 5.



Gambar 5. Mekanisme Penghambatan Radikal DPPH

Cara pengukuran aktivitas antioksidan terhadap radikal bebas DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) dilakukan dengan mereaksikan larutan sampel dengan radikal DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) yang dilarutkan dalam metanol, setelah beberapa waktu diinkubasi pada suhu kamar larutan diukur

panjang gelombang maksimal dengan spektrofotometer UV-Vis. Parameter yang dipakai untuk menunjukkan aktivitas antioksidan dinyatakan dalam *inhibition concentration* 50 (IC_{50}). Nilai tersebut menyatakan besarnya konsentrasai suatu zat antioksidan yang dibutuhkan untuk meredam radikal DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) sebanyak 50%. Senyawa yang mempunyai aktivitas antioksidan tinggi akan mempunyai nilai IC_{50} yang rendah.

B. Penelitian Yang Relevan

Penelitian aktivitas antioksidan yang dilakukan oleh Hertiani (2010), menyebutkan bahwa ekstrak etanol temu kunci memiliki kandungan utama senyawa golongan minyak atsiri dan senyawa flavonoid. Ekstrak metanol temu kunci memiliki aktivitas antioksidan sangat kuat dengan nilai IC_{50} 10,36 $\mu\text{g/mL}$.

Veronika (2011) melakukan penelitian tentang pencarian senyawa sebagai penanda analitik dari temu kunci. Metode yang digunakan untuk isolasi adalah maserasi dengan pelarut metanol dan petroleum bensin. Hasil ekstrak dipartisi dengan pelarut etil asetat. Fraksi etil asetat kemudian difraksinasi dengan menggunakan KVC. Berdasarkan analisis kristal ekstrak petroleum bensin dari rimpang temu kunci adalah pinostrombin yang merupakan senyawa flavanoid yang tergolong flavon. Keberadaan senyawa yang melimpah dalam ekstra petroleum bensin dapat menjadikan pinostrombin sebagai senyawa penanda analitik rimpang temu kunci.

Ching A. Y. L. (2007) mengisolasi dan mengkarakterisasi senyawa flavonoid dari temu kunci. Dari penelitiannya berhasil memperoleh lima senyawa yaitu senyawa flavonoid pinostrombin, pinocebrim, alpinetin dan dua senyawa kalkon yaitu kardamonin dan pandurita A.

C. Kerangka Berfikir

Beberapa penelitian telah dilakukan pada tanaman temu kunci (*Boesenbergia pandurata*) rimpang tanaman ini mengandung beberapa jenis flavonoid seperti pinostrobin, alpinetin, kardamonin dan boesenbergia A. Pada penelitian ini rimpang tanaman temu kunci (*Boesenbergia pandurata*) diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol. Proses maserasi dilakukan secara berulang yaitu 3 kali pengulangan. Ekstrak kemudian dievaporasi menggunakan evaporator hingga menjadi ekstrak kental etanol, kemudian diuji antioksidannya menggunakan metode DPPH. Penelitian ini untuk mengetahui besarnya aktivitas antioksidan pada ekstrak dan senyawa murninya rimpang temu kunci.

Karakterisasi senyawa metabolit sekunder pada rimpang temu kunci dilakukan dengan cara isolasi. Ekstrak kental etanol kemudian dilarutkan dalam pelarutan n-heksan, etanol dan aseton kemudian di rekristalisasi dan untuk pengecekan kemurnian senyawa digunakan KLT, noda tunggal menandakan senyawa yang didapat telah murni. Kemudian dapat dilakukan karakterisasi senyawa yang didapat dengan menggunakan spektroskopi, antara lain UV-Vis, IR, dan H-NMR.

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Subjek dan Objek Penelitian

Subjek dan objek pada penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Subjek

Subjek penelitian ini adalah temu kunci (*Boesenbergia pandurata*).

2. Objek

Senyawa dalam ekstrak etanol dan aktivitas antioksidan ekstrak temu kunci (*Boesenbergia pandurata*).

B. Variabel Penelitian

Variabel dalam penelitian ini meliputi variabel bebas dan terikat yang diuraikan sebagai berikut:

1. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah temu kunci (*Boesenbergia pandurata*).
2. Variabel terikat dalam penelitian ini adalah aktivitas antioksidan ekstrak etanol temu kunci (*Boesenbergia pandurata*) dan senyawa dalam ekstrak etanol temu kunci (*Boesenbergia pandurata*).

C. Alat dan Bahan Penelitian

1. Alat penelitian :

- a. Spektrofotometer UV-Vis
- b. Spektrometer IR
- c. Spectronic²⁰ genesys TM
- d. Satu set evaporator buchi R-144

- e. Chamber kromatografi
- f. Plat KLT Merek Si gel 60 F254
- g. Neraca analitik
- h. Lampu UV CAMAG
- i. Alat-alat gelas
- j. Jerigen
- k. Pipet volum
- l. Spatula
- m. Corong biasa
- n. Kertas saring
- o. Pipa kapiler

2. Bahan penelitian :

- a. Rimpang temu kunci
- b. N-heksana teknis
- c. Aseton terdestilasi
- d. Etanol teknis
- e. Etanol p.a
- f. Metanol p.a
- g. DPPH (*2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl*)

D. Prosedur Penelitian

1. Persiapan Sampel

Memilih rimpang temu kunci kemudian dilakkan proses pencucian, pengeringan dan penggilingan sehingga diperoleh serbuk kering.

2. Ekstraksi Sampel

Serbuk temu kunci yang telah diperoleh selanjutnya dimaserasi dengan etanol teknis. Rendam sampel dalam etanol teknis selama 24 jam dalam jerigen yang tertutup rapat. Hasil rendaman kemudian disaring dengan hingga diperoleh ekstrak etanol. Residu yang diperoleh direndam kembali (remaserasi) dalam etanol hingga diperoleh kembali ekstrak etanol. Proses maserasi diulang sebanyak 2 kali pengulangan. Setelah proses maserasi selesai, ekstrak etanol dikumpulkan kembali dengan menggunakan kertas saring.

3. Evaporasi

Ekstrak etanol hasil maserasi kemudian dievaporasi dengan evaporator Buchii dengan tujuan agar pelarut menguap, sehingga diperoleh ekstrak etanol pekat yang volumenya menjadi sepertiga bagian dari volume ekstrak etanol awal.

4. Uji Aktivitas Antioksidan Dengan Metode DPPH

a. Larutan DPPH

Melarutkan DPPH 4,8 mg dalam etanol p.a 100 mL sehingga didapatkan konsentrasi 0,12 mM, simpan dalam ruangan gelap selama 20 menit. Larutan dipersiapkan setiap hari.

b. Larutan Blanko

Larutan blanko yang digunakan dalam uji aktivitas antioksidan ini adalah etanol p.a.

c. Larutan Kontrol

Metambahkan larutan 1,5 mL etanol p.a pada 1,5 mL larutan DPPH dalam tabung reaksi.

d. Larutan Stok

Ditimbang 1 mg ekstrak rimpang temu kunci, kemudian dilarutkan hingga 10 mL etanol pada labu ukur sehingga didapatkan konsentrasi larutan stok 100 $\mu\text{g/mL}$. Larutan stok ekstrak dibuat dengan variasi konsentrasi dalam labu ukur.

e. Larutan Sampel

Larutan stok dengan konsentrasi 100 $\mu\text{g/mL}$, dibuat larutan sampel dengan berbagai konsentrasi yaitu sebesar 3,125 $\mu\text{g/mL}$, 12,5 $\mu\text{g/mL}$, 25 $\mu\text{g/mL}$, 50 $\mu\text{g/mL}$. Dari variasi konsentrasi tersebut dilakukan pengujian aktivitas antioksidan secara kualitatif.

f. Penentuan Aktivitas Antioksidan

Penentuan antioksidan dilakukan dengan cara menambahkan larutan sampel pada larutan DPPH dalam tabung reaksi. Larutan sampel dibuat dengan variasi konsentrasi 3,125 $\mu\text{g/mL}$, 12,5 $\mu\text{g/mL}$, 25 $\mu\text{g/mL}$, 50 $\mu\text{g/mL}$ dan 100 $\mu\text{g/mL}$. Kemudian campuran dihomogenkan dengan vortex sampai tercampur dan didiamkan dalam gelap(atau dihindarkan dari sinar matahari) selama 30 menit pada masing-masing larutan sampel. Pengukuran absorbansi dari sampel dalam penelitian ini dilakukan sebanyak tiga kali pengulangan (triplo) dan selanjutnya digunakan untuk analisis data.

5. Isolasi Rimpang Temu Kunci

a. Pemurnian dengan Rekristalisasi

Rekristalisasi adalah metode pemurnian zat padat dari campuran atau pengotornya dengan cara mengkristalkan kembali zat tersebut setelah dilarutkan dalam pelarut yang cocok. Ada tujuh tahap dalam rekristalisasi yaitu, memilih pelarut dalam penelitian ini pelarut yang digunakan adalah etanol, n-heksan dan aseton, melarutkan zat terlarut, menghilangkan warna larutan, memindahkan zat padat, mengkristalkan larutan, mengumpulkan dan mencuci kristal, mengeringkan produknya.

b. Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

KLT dilakukan untuk menentukan kemurnian senyawa yang di dapatkan dengan beberapa perbandingan pelarut antara lain n-heksan : etil asetat= 9:1; n-heksan : aseton= 8:2; metanol:kloroform= 8:2.

c. Uji Kemurnian

Hasil yang telah menunjukkan satu noda dapat dilanjutkan uji dengan spektroskopi.

d. Uji Spektroskopi

Senyawa murni yang telah diperoleh kemudian dianalisis menggunakan spektroskopi UV-Vis untuk mengetahui panjang gelombang maksimum, spektroskopi IR untuk mengetahui gugus fungsi dalam senyawa, dan spektroskopi H-NMR untuk memberikan informasi mengenai jumlah, jenis dan lingkungan atom-atom hidrogen dalam senyawa hasil.

E. Teknik Analisis Data

Ada dua teknik analisis data yang digunakan dalam penelitian ini, yaitu teknik analisis data untuk penentuan aktivitas antioksidan dan senyawa hasil isolasi rimpang temu kunci.

1) Teknik Analisis Data Uji Aktivitas Antioksidan

Analisis data yang digunakan adalah dengan menentukan absorbansi dari ekstrak rimpang temu kunci, inhibisi dari suatu sampel terdapat radikal DPPH dalam persen (%) menunjukkan aktivitas antioksidan.

Perhitungan persen inhibisi dapat menggunakan persamaan

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100 \%$$

Konsentrasi senyawa yang menunjukkan nilai IC_{50} dapat dihitung dengan menggunakan persamaan regresi linier atau menghubungkan % inhibisi terhadap konsentrasi sampel.

2) Teknik Analisis Data Senyawa Hasil Pemisahan

Senyawa hasil pemisahan dengan ekstraksi maserasi kemudian dievaporasi dilanjutkan dengan pemurnian secara rekristalisasi. Senyawa hasil pemurnian diperiksa kemurniannya menggunakan KLT dan selanjutnya dianalisis struktur senyawanya secara spektroskopi UV-Vis, IR, dan H-NMR.

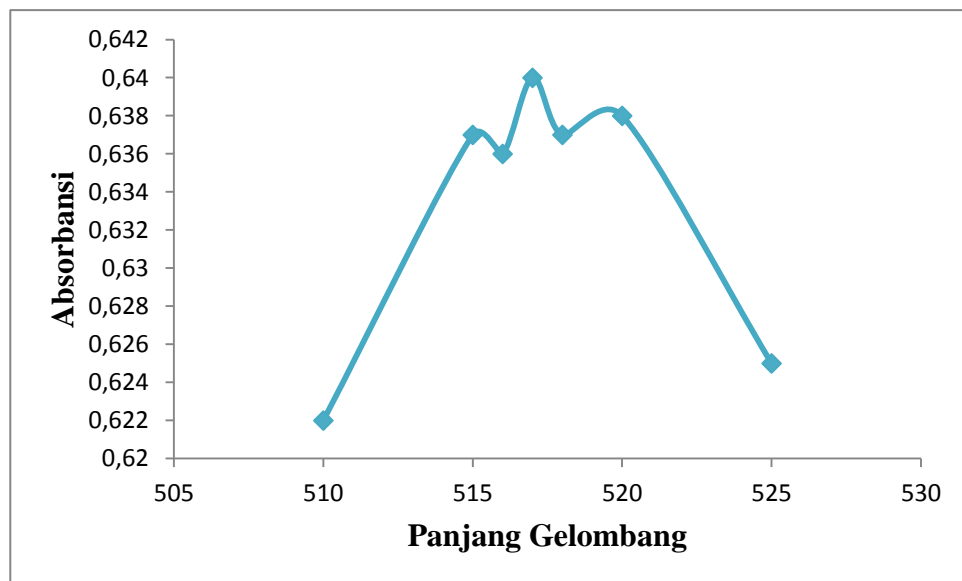
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Penelitian

1. Uji Antioksidan

a. Penentuan Aktivitas Antioksidan

Penentuan antioksidan dilakukan dengan pengukuran absorbansi pada panjang gelombang maksimum DPPH yaitu 517 nm. Penentuan panjang gelombang maksimum diukur pada rentang 510-525 nm. Diperoleh panjang gelombang maksimum pada 517 nm, seperti ditunjukkan pada gambar 6 dan data selengkapnya dapat dilihat pada lampiran 2.



Gambar 6. Kurva Penentuan Panjang Gelombang Maksimum DPPH

setelah didapatkan panjang gelombang maksimum DPPH kemudian melakukan penentuan aktivitas antioksidan dengan menggunakan alat spectronic₂₀ dari masing-masing sampel, dalam penelitian ini dilakukan

pengukuran sebanyak tiga kali (triplo). Data absorbansi selengkapnya dapat dilihat dalam tabel 4.

Tabel 4. Data Absorbansi Ekstrak Etanol Rimpang Temu Kunci

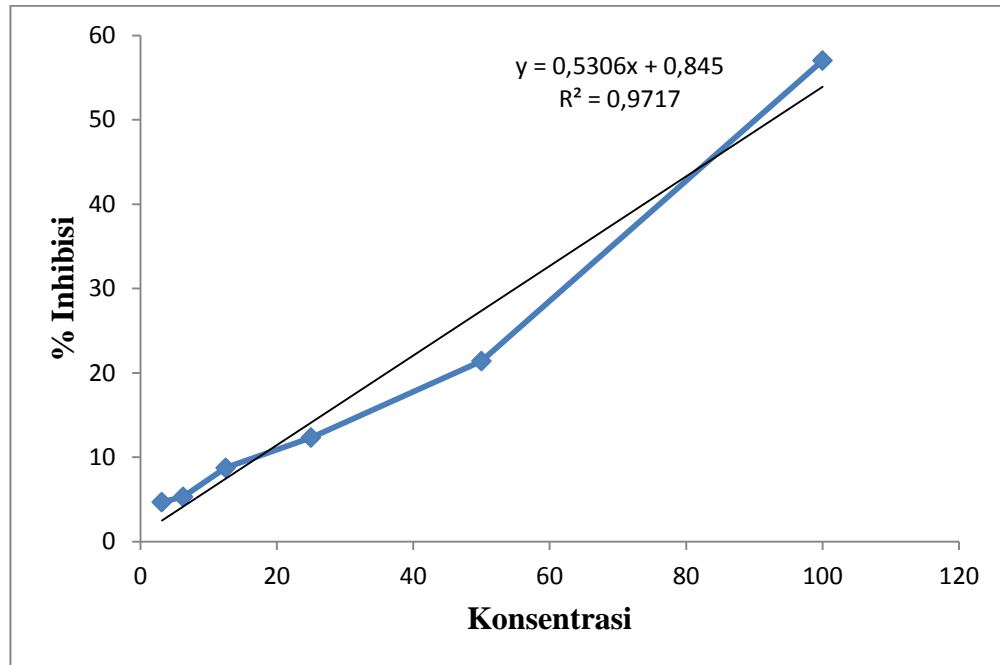
No.	Konsentrasi sampel (µg/ml)	Absorbansi	Rata-rata Absorbansi	% Inhibisi
1	100	0,285	0,257	57,03125
		0,274		
		0,267		
2	50	0,514	0,503	21,40625
		0,495		
		0,501		
3	25	0,570	0,561	12,34375
		0,556		
		0,557		
4	12,5	0,587	0,584	8,750
		0,581		
		0,584		
5	6,25	0,604	0,606	5,3125
		0,606		
		0,610		
6	3,125	0,608	0,610	4,6875
		0,614		
		0,609		

Keterangan : Absorbansi blanko : 0,000, Absorbansi Kontrol : 0,640

Dari data persen inhibisi pada variasi fraksi tersebut, dibuat kurva dengan menghubungkan konsentrasi sampel (sumbu X) terhadap (%) inhibisi sebagai parameter aktivitas antioksidan (sumbu Y), sehingga diperoleh persamaan regresi linier yang dapat digunakan untuk menentukan konsentrasi senyawa yang menunjukkan nilai IC₅₀.

Hasil yang diperoleh berdasarkan persamaan regresi linier $y = bx + a$, untuk menentukan estimasi nilai IC₅₀. Kurva IC₅₀ dari variasi konsentrasi

ekstrak temu kunci dapat dilihat pada gambar 7, sedangkan nilai IC_{50} dapat dilihat pada tabel 6.



Gambar 7. Kurva Penentuan IC_{50} Ekstrak Etanol Rimpang Temu Kunci

Berdasarkan kurva persamaan regresi linier di atas digunakan untuk menghitung besarnya IC_{50} , sehingga diperoleh besarnya nilai IC_{50} untuk ekstrak etanol rimpang temu kunci. Nilai IC_{50} diperoleh dengan memasukkan nilai 50 untuk menggantikan koefisien y pada persamaan regresi linier. Berikut perhitungan nilai IC_{50} pada ekstrak etanol rimpang temu kunci.

Tabel 5. Regresi Linier Ekstrak Etanol Rimpang Temu Kunci

Persamaan, $y = bx + a$	R^2
$y = 0,530x + 0,845$	0,9717

Keterangan :

a = intercept,

b = slope

R^2 = Koefisien determinasi

$$y = 0,530x + 0,845$$

$$50 = 0,530x + 0,845$$

$$50 - 0,845 = 0,530x$$

$$49,150 = 0,530x$$

$$x = 49,150 / 0,530$$

$$x = 92,6404 \mu\text{g/mL}$$

Tabel 6. Data IC₅₀ Ekstrak Etanol Rimpang Temu Kunci

Persamaan, $y = bx + a$	R^2	IC ₅₀ ($\mu\text{g/mL}$)
$y = 0,530x + 0,845$	0,9717	92,6404

2. Isolasi Senyawa Metabolit Sekunder Ekstak Etanol Temu Kunci

a. Hasil Pemisahan Dengan Ekstraksi

Metode ekstraksi yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode maserasi dengan merendam serbuk rimpang temu kunci didalam etanol teknis selama 24 jam, setelah 24 jam hasil maserasi disaring sehingga didapatkan cairan hasil yang kemudian dievaporasi sehingga didapatkan ekstrak kental temu kunci. Serbuk rimpang dengan berat awal 3 kg setelah menjadi ekstrak kental hasil maserasi menjadi 47,621 gram. Rendemen dapat dihitung dari serbuk temu kunci dan ekstrak kental temu kunci dan mendapatkan rendemen sebesar 1,587 %.

$$\begin{aligned} \text{Rendemen} &= \frac{\text{Berat ekstrak kental}}{\text{Berat serbuk temu kunci}} \times 100\% \\ &= \frac{47,621 \text{ gram}}{3000 \text{ gram}} \times 100 \% = 1,587 \% \end{aligned}$$

b. Hasil Isolasi Ekstrak Etanol Rimpang Temu Kunci

Hasil ekstraksi rimpang temu kunci dengan etanol 96% berupa ekstrak kental temu kunci yang kemudian dilarutkan dalam etanol kemudian campurkan n-heksan kemudian aduk sampai larutan jernih kemudian dimasukkan dalam aseton dan didiamkan sampai mendapatkan hasil kristal putih yang ditunjukkan pada gambar 8.



Gambar 8. Hasil Isolasi Ekstrak Temu Kunci

Ekstrak dengan berat awal 4 g setelah menjadi kristal putih hasil rekristalisasi menjadi 0,089 mg. Rendemen dapat dihitung dari serbuk temu kunci dan ekstrak kental temu kunci dan Pmendapatkan rendemen sebesar 2,225 %.

$$\begin{aligned}\text{Rendemen} &= \frac{\text{Berat ekstrak kental}}{\text{Berat serbuk temu kunci}} \times 100\% \\ &= \frac{0,089 \text{ gram}}{4 \text{ gram}} \times 100 \% = 2,225 \%\end{aligned}$$

c. Hasil Uji Kemurnian Dengan Kromatografi Lapis Tipis

Kristal putih yang didapat kemudian diidentifikasi dengan KLT menggunakan plat silika gel. Eluen yang digunakan adalah heksana : etil asetat = 9:1. Kromatografi hasil uji kemurnian terhadap senyawa dengan KLT dapat dilihat pada gambar 9.

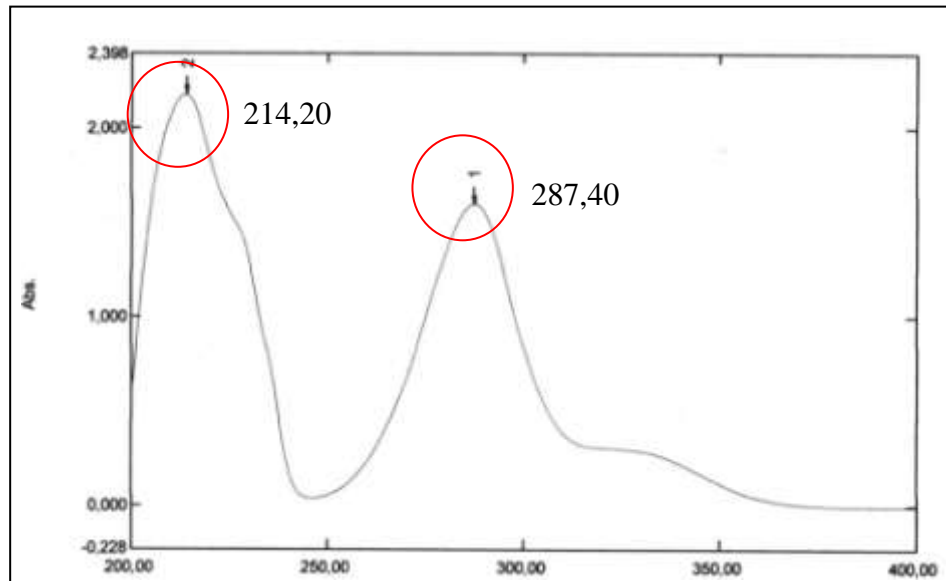


Gambar 9. KLT Senyawa Hasil Isolasi

TLC Scanner hasil isolasi melalui variasi eluen heksana : etil asetat sebesar 9:1 dengan $R_f = 0,6554$.

d. Hasil Analisis Spektrometer UV-Vis

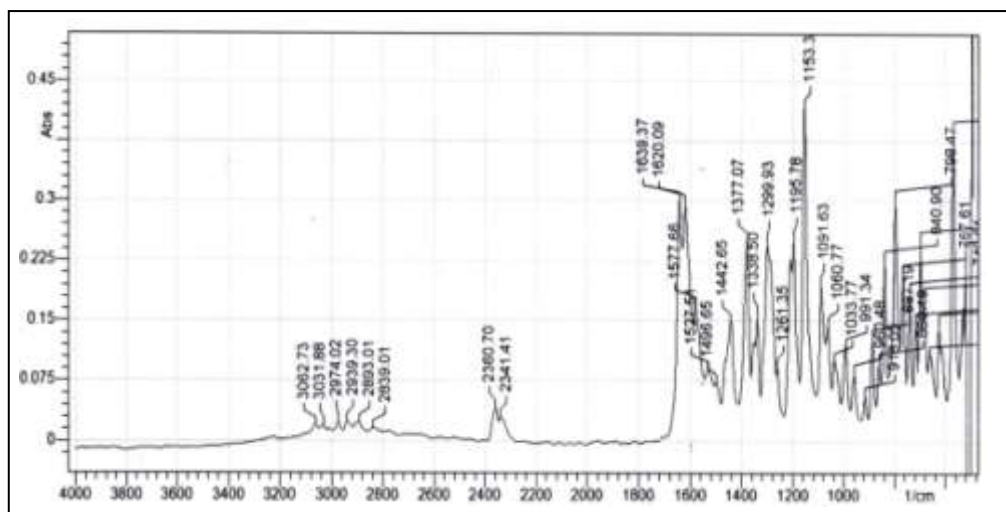
Spektrometer UV-Vis digunakan untuk mengetahui panjang gelombang maksimum dari senyawa hasil isolasi. Hasil analisis spektrum UV-Vis menunjukkan senyawa hasil isolasi menggunakan pelarut metanol p.a memiliki puncak dengan panjang gelombang maksimum pada 287,40 nm; 214,20 nm. Spektra UV-Vis beserta puncak serapan dapat dilihat pada gambar 10.



Gambar 10. Spektra UV-Vis Hasil Isolasi

e. Hasil Analisis Spektrometer IR

Spektroskopi IR digunakan untuk mengetahui gugus fungsional dalam senyawa hasil isolasi. Spektra IR terhadap senyawa hasil isolasi ditunjukkan pada gambar 11.



Gambar 11. Spektra IR Hasil Isolasi

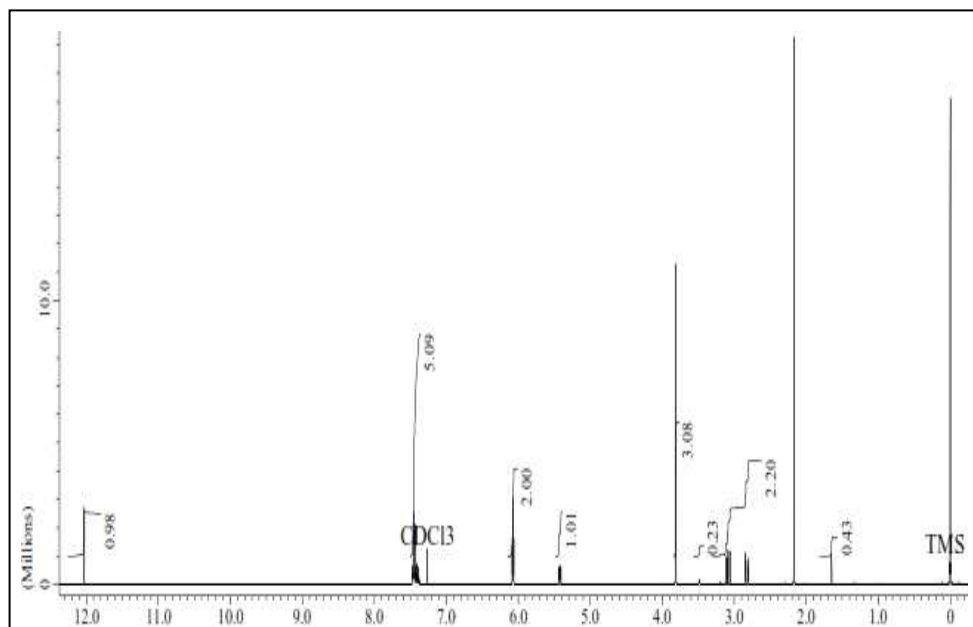
Hasil analisis dari spektra IR terhadap senyawa hasil isolasi disajikan pada tabel 7.

Tabel 7. Analisis Spektra IR Hasil Isolasi

Bilangan Gelombang	Gugus Fungsional
1571,66	C=C aromatik
1639,37	C=O karbonil
1153,35; 1299,93; 1377,93	C-O

f. Hasil Analisis Spektrometer H^1 -NMR

Spektrokopi proton memberikan informasi struktural mengenai atom-atom hidrogen, dapat membedakan jenis proton dan mengungkapkan berapa banyak jenis proto yang ada dalam satu molekul organik. Spektra H^1 -NMR senyawa hasil isolasi dari ektral etanol rimpang temu kunci dapat dilihat dalam gambar 12.



Gambar 12. Spektra H^1 -NMR Hasil Isolasi

B. Pembahasan

Tujuan dari penelitian ini adalah menentukan aktivitas antioksidan ekstrak rimpang temu kunci dan senyawa metabolit sekunder pada rimpang temu kunci (*Boesenbergia pandurata*) dan mengetahui metode isolasi senyawa metabolit sekunder dalam ekstrak etanol pada rimpang temu kunci (*Boesenbergia pandurata*) .

1. Uji Aktivitas Antioksidan

Ekstrak etanol 96% temu kunci yang diperoleh dalam penelitian ini adalah 47,621 gram dari 3 kg serbuk temu kunci, uji dilakukan untuk mengetahui aktivitas antioksidan dari ekstrak etanol temu kunci dari beberapa variasi konsentrasi. Pengujian antioksidan dari ekstrak etanol temu kunci dilakukan dengan menggunakan metode DPPH. DPPH adalah suatu radikal yang cukup stabil, ketika radikal DPPH bereaksi dengan suatu senyawa antioksidan yang dapat mendonorkan radikal hidrogen, radikal DPPH akan terus tereduksi membentuk DPPH-H dan warna akan berubah dari ungu menjadi ungu pudar menuju warna kuning ketika elektron radikal bebas DPPH berpasangan dengan sebuah hidrogen penangkap radikal bebas dari suatu antioksidan. Prinsip dari pengujian ini adalah mengukur secara kuantitatif kemampuan suatu senyawa dalam menangkap radikal bebas yang berasal dari DPPH menggunakan alat spektrofotometer, dengan demikian dapat diketahui nilai persen (%) inhibisi dari senyawa terhadap radikal DPPH, yang dinyatakan dengan nilai IC_{50} . Nilai IC_{50} merupakan nilai yang menunjukkan

besarnya konsentrasi sampel yang dapat menangkap radikal bebas DPPH sebesar 50%.

Larutan DPPH harus disimpan dalam tempat gelap agar terhindar dari sinar matahari yang dapat menyebabkan terjadinya dekomposisi pada larutan, serta pembuatan larutan DPPH harus dipersiapkan setiap hari.

Metode DPPH bekerja dengan mengukur penangkal radikal bebas oleh suatu senyawa yang memiliki aktivitas antioksidan melalui mekanisme pengambilan atom hidrogen dari senyawa antioksidan oleh radikal bebas sehingga radikal bebas menangkap satu elektron dari antioksidan untuk mendapatkan pasangan elektron.

Aktivitas antioksidan terbukti dengan terjadinya perubahan warna pada larutan DPPH dalam etanol yang sebelumnya berwarna ungu berubah menjadi kuning. Perubahan warna yang terjadi sebagai salah satu parameter terhadap pembacaan besarnya absorbansi pada instrumen. Semakin rendah konsentrasi radikal bebas, maka absorbansi yang terbaca juga semakin rendah. Hal ini terjadi akibat adanya reaksi antara radikal bebas dengan antioksidan sehingga molekul DPPH menjadi tereduks ketika ekstrak memiliki senyawa antioksidan yang aktif. Data absorbansi larutan DPPH dengan ekstrak etanol temu kunci kemudian dihitung persen inhibisibya, setelah didapat persen inhibisi data diolah sehingga mendapatkan nilai IC_{50} . Nilai IC_{50} setelah perhitungan dari persamaan $y = 0,530x + 0,845$ adalah $92,6404 \mu\text{g/mL}$.

Nilai IC_{50} berbanding terbalik dengan kemampuan antioksidan suatu senyawa. Semakin kecil nilai IC_{50} maka semakin besar kemampuan

antioksidan yang dimiliki senyawa tersebut. IC_{50} adalah besarnya konsentrasi ekstrak yang dibutuhkan untuk menghambat 50% radikal bebas.

Tingkat aktivitas antioksidan dikelompokkan berdasarkan besarnya nilai IC_{50} dapat dilihat pada tabel 8.

Tabel 8. Tingkat Aktivitas Antioksidan Berdasarkan Nilai IC_{50}

Tingkat Aktivitas Antioksidan	
Sangat kuat	$IC_{50} < 50 \mu\text{g/mL}$
Kuat	$IC_{50} 50\text{-}100 \mu\text{g/ mL}$
Sedang	$IC_{50} 101\text{-}150 \mu\text{g/ mL}$
Lemah	$IC_{50} > 150 \mu\text{g/mL}$

(Ariyanto, 2006)

Berdasarkan hasil perhitungan dari hasil penelitian diketahui nilai IC_{50} ekstrak etanol rimpang temu kunci $92,6404 \mu\text{g/mL}$ ini berarti tingkat aktivitas antioksidannya kuat. Hal tersebut didukung dengan harga R^2 atau koefisien determinasi 0,9717 yang kemungkinan terjadinya kesalahan pada hasil IC_{50} kecil.

2. Isolasi Senyawa dalam Ekstrak Etanol Temu Kunci

Isolasi senyawa dalam ekstrak etanol dilakukan dengan metode yang cukup sederhana yaitu dengan metode pemurnian dengan rekristalisasi. Rekristalisasi adalah metode pemurnian zat padat dari campuran atau pengotornya dengan cara mengkristalkan kembali zat tersebut setelah dilarutkan dalam pelarut yang cocok. Ada tujuh tahap dalam melakukan kerja eksperimen rekristalisasi yaitu, memilih pelarut, melarutkan zat terlarut, menghilangkan warna larutan, memindahkan zat padat, mengkristalkan larutan,

mengumpulkan dan mencuci kristal, mengeringkan produknya (Williamson, 1999) pada penelitian ini pelarut yang dipilih untuk melarutkan senyawa adalah etanol, n-heksan dan aseton, ekstrak dilarutkan dalam etanol. Pelarut etanol digunakan karena etanol merupakan pelarut yang hampir melarutkan semua senyawa organik. Berdasarkan prinsip *like dissolve like*, pelarut etanol merupakan pelarut yang bersifat polar sehingga diharapkan dapat melarutkan senyawa yang bersifat polar yang terkandung dalam ekstrak rimpang temu kunci, kemudian dalam larutan ditambahkan sedikit n-heksan, penambahan n-heksan bertujuan agar senyawa yang bersifat non-polar dapat larut dalam n-heksan yang bersifat non-polar. Campur larutan sampai semua ekstrak terlarut, kemudian disaring agar terpisah dengan pengotor yang tidak terlarut, di dalam larutan akan terbentuk padatan cuci dengan pelarut etanol dan n-heksan sampai menjadi tak berwarna (larutan yang semula berwarna kuning) pisahkan padatan yang terbentuk kemudian masukkan dalam aseton yang bertujuan untuk mencuci kristal, keringkan sampai kembali terbentuk kristal. Dalam penelitian ini hasil kristal yang terbentuk berwarna putih, kristal yang terbentuk kemudian diperiksa kemurniannya dengan KLT.

a. Identifikasi Senyawa Menggunakan KLT

Identifikasi dengan KLT bertujuan untuk menguji apakah senyawa itu murni atau masih terdapat pengotor. Senyawa dikatakan murni jika setelah digunakan berbagai macam pelarut hanya menghasilkan satu spot. Pelarut yang digunakan adalah campuran heksana : etil asetat = 9:1. Kromatogram menunjukkan senyawa hasil isolasi adalah senyawa murni, ini dibuktikan

dengan hasil KLT yang memberikan satu spot. Hasil Rf (*retardition factor*) dari senyawa adalah 0,6554. Senyawa murni yang telah berhasil diisolasi kemudian diidentifikasi menggunakan spektroskopi UV-Vis, IR, dan NMR.

b. Identifikasi Senyawa Menggunakan Spektroskopi UV-Vis

Identifikasi dengan spektroskopi UV-Vis bertujuan untuk mengetahui adanya gugus kromofor. Gugus kromofor adalah gugus tak jenuh kovalen yang dapat menyerap radiasi dalam daerah-daerah ultraviolet dan visibel. Pelarut yang digunakan adalah metanol karena faktor koreksi yang dimiliki oleh metanol 0 nm, artinya metanol tidak menyerap pada daerah UV selain itu metanol dapat melarutkan sampel secara sempurna. Data spektrum UV-Vis sampel yang diuji menunjukkan λ_{\max} pada 287,40 nm dan 214,20 nm yang menandakan adanya gugus sinamol dan benzoil. Hal ini dapat dilihat pada tabel 9.

Tabel 9. Hasil Analisis Spektra UV-Vis

λ_{\max}	Sampel
Pita I	287,40 nm
Pita II	214,20 nm

Dari literatur spektra hasil UV-Vis sampel menunjukkan adanya senyawa golongan flavonon yang memiliki ciri khusus yaitu panjang gelombang pada ± 225 nm yang menandakan gugus benzoil dan 275-290 nm yang menandakan gugus benzena (Kristanti dkk,2008) dan didukung dari tabel 1 yang menunjukkan serapan flavanon menurut Markham (1988) panjang gelombang 289 nm.

c. Identifikasi Senyawa Menggunakan Spektroskopi IR

Identifikasi dengan spektroskopi IR digunakan untuk mengetahui gugus fungsional yang spesifik (N-H, C-H, O-H, C=O, dan sebagainya) dari suatu senyawa hasil isolasi. Daerah panjang gelombang yang biasa digunakan adalah $650\text{-}4000\text{ cm}^{-1}$. Setiap serapan pada daerah pita-pita tertentu dari daerah vibrasi inframerah akan menentukan jenis tipe ikatan tertentu.

Berdasarkan gambar 11, hasil spektra IR senyawa hasil isolasi menunjukkan bahwa terdapat beberapa gugus fungsi yang ditunjukkan dengan munculnya puncak-puncak serapan pada bilangan gelombang $1639,37\text{ cm}^{-1}$ yang menunjukkan adanya gugus C=O karbonil, terdapat puncak pada bilangan gelombang $1571,66\text{ cm}^{-1}$ yang menunjukkan adanya C=C aromatik, dan terdapat puncak pada bilangan gelombang $1377,93\text{ cm}^{-1}$; $1299,93\text{ cm}^{-1}$; $1153,35\text{ cm}^{-1}$ yang menunjukkan adanya gugus fungsional C-O. Hasil penentuan spektra data IR dapat dilihat pada tabel 10.

Tabel 10. Hasil Penentuan Spektra IR

No.	Gugus Fungsional	Hasil Isolasi (cm^{-1})
1	C=C aromatic	1571,66
2	C=O karbonil	1639,37
3	C-O	1153,35
4	C-O	1299,93
5	C-O	1377,93

Hasil analisis spektra IR ini dapat menunjukkan perkiraan hasil isolasi. Selanjutnya dilakukan identifikasi dengan menggunakan spektrometer H^1 -NMR.

d. Identifikasi Senyawa Menggunakan Spektroskopi H^1 -NMR

Identifikasi dengan spektroskopi H^1 -NMR dapat memberikan informasi mengenai jumlah proton, sifat proton dan lingkungan proton. Kedudukan sinyal menginformasikan mengenai lingkungan elektronik dari setiap proton. Intensitas sinyal memberikan informasi mengenai jumlah proton dari setiap jenis proton. Sedangkan pemecahan/splitting menginformasikan pemecahan sinyal proton menjadi beberapa puncak akibat pengaruh proton-proton yang berdekatan. Spektrum H^1 -NMR senyawa hasil isolasi dapat dilihat pada gambar 12.

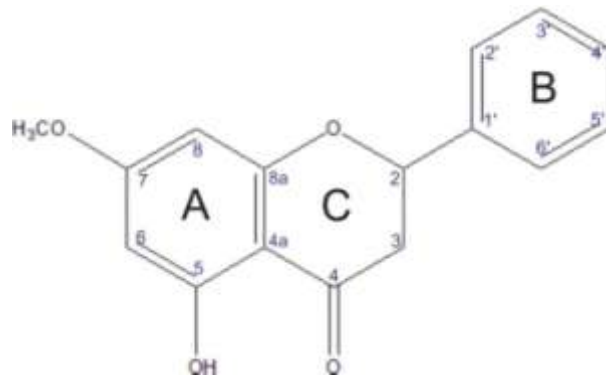
Berdasarkan gambar 12, spektrum H^1 -NMR menunjukkan adanya beberapa sinyal proton. Sinyal proton pada daerah $\delta = 7,391 - 7,437$ ppm (5H, m) menunjukkan adanya gugus benzena monosubstitusi. Sinyal proton pada daerah aromatik $\delta = 6,079$ ppm dan $\delta = 6,083$ ppm ($J = 2$ Hz; 2H; m) menunjukkan adanya proton H dengan kopling meta dibuktikan dengan nilai koplingnya yaitu sebesar 2Hz dan adanya cincin benzena tetra substitusi. Sinyal proton pada daerah $\delta = 12,029$ ppm (1H, s) menunjukkan adanya gugus hidroksil yang bersebelahan dengan dengan gugus karbonil. Sinyal proton pada daerah $\delta = 3,781$ (3H, s) menunjukkan adanya gugus metoksi. dan adanya Sinyal proton pada daerah daerah alifatik $\delta = 5,434$ ppm ($J = 3,5$ Hz; 1H; dd), $\delta = 3,060$ ppm dan $\delta = 3,086$ ppm ($J = 13$ Hz; 2H; d).

Hasil analisis spektra data H^1 -NMR senyawa hasil isolasi dapat dilihat pada tabel 11.

Tabel 11. Hasil Penentuan Spektra H^1 -NMR

H	δ (ppm)	Splitting	J (Hz)	Integrasi	Jumlah sinyal H
3	3,060	d	13	2,20	2H
	3,086	d	13		
7-OMe	3,781	s	-	3,08	3H
5-OH	12,029	s	-	0,98	1H
2	5,434	dd	3,5	1,01	1H
6 dan 8	6,079; 6,083	m	2	2,00	2H
2',3',4',5',6'	7,391- 7,437	m	-	5,09	5H

Dalam spektra UV-Vis dapat diprediksi senyawa yang terbentuk adalah flavonoid golongan flavanon karena memiliki panjang gelombang maksimal pada 214,20 nm dan 287,40 nm yang merupakan salah satu ciri khas dari spektra flavonoid. Hal ini didukung dengan hasil spektra IR yang menunjukkan adanya gugus aromatik, gugus karbonil dan gugus C-O kemudian spektra H-NMR memperkuat adanya gugus aromatik pada hasil isolasi, spektra H-NMR menunjukkan adanya beberapa jenis proton antara lain adalah adanya proton hidroksil, metoksi, dan cincin aromatik sehingga struktur molekul senyawa hasil isolasi dapat diprediksikan seperti pada gambar 13.



Gambar 13. Prediksi Senyawa Hasil Isolasi

Berdasarkan identifikasi yang dilakukan bahwa senyawa hasil isolasi adalah senyawa golongan flavanon yaitu 5-hidroksi-7-metoksi flavanon (Pinostrobin).

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan, maka dapat ditarik kesimpulan bahwa :

1. Tingkat Aktivitas antioksidan ekstrak etanol rimpang temu kunci (*Boesenbergia pandurata*) tergolong kuat dengan nilai IC₅₀ sebesar 92,6404 µg/mL.
2. Hasil isolasi senyawa metabolit sekunder dari ekstrak etanol rimpang temu kunci (*Boesenbergia pandurata*) adalah 5-hidroksi-7-metoksi flavanon (Pinostrobin).

B. Saran

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan dapat diberiakan saran sebagai berikut:

1. Perlu dilakukan pengujian lebih lanjut tentang hasil senyawa isolasi rimpang temu kunci.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengisolasi bagian lain dari tumbuhan temu kunci.
3. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk uji lain senyawa dalam tumbuhan temu kunci.

DAFTAR PUSTAKA

- Achmadi, S. S., (2003). Kimia Organik. Edisi 11. Jakarta: Erlangga.
- Ariyanto, R. (2006). Uji Aktivitas Antioksidan, Penentuan Kandungan Fenolik dan Flavonoid Air Ekstrak Metanolik Pegagan (*Centella asiatica* L. Urban). *Skripsi* Fakultas Farmasi Universitas Gajah Mada.
- Aulia, I. P. (2009). Efek Minyak Atsiri Cabe Jawa Terhadap Jumlah Limfosit Tikus Wistar Yang Diberi Diet Kuning Telur. *Skripsi* FMIPA Universitas Diponegoro Semarang.
- Cahyadi & Wisnu. (2006). Analisis & Aspek Kesehatan Bahan Tambahan Pangan. Bumi Aksara: Jakarta.
- Ching. A. Y. L, Wah, T. S., Sukari, M. A., Lian, G. E. L. Rahmani, M., dan Khalid, K. (2007). Characterization Of Flavonoid Derivatives from *Boesenbergia rotunda* (L). *The Malayssian Journal of Analytical Science*. 11(1): 154-159.
- Dimas Aditya Hariyadi. (2013). Isolasi Dan Karakterisasi Senyawa Metabolit Sekunder Fraksi Etil Asetat Relatif Non Polar Rimpang Temu Kunci (*Kaempferia pandurata* Roxb.) Yang Ditanam Di Samigaluh Kulon Progo, Yogyakarta. *Skripsi* FMIPA Universitas Negeri Yogyakarta.
- Erawati. (2012). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun *garniadaedalanthera* Pierre dengan metode DPPH (*1,1-difenil pikrilhidrazil*) Dan Identifikasi Golongan Senyawa Kimia dari Fraksi Paling Aktif. *Skripsi* FMIPA Universitas Indonesia : Jakarta.
- Evi Umayah U & Moch. Amrun H. (2007). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Buah Naga (*Hylocereus undatus* (Haw.) Britt. & Rose). *Jurnal Ilmu Dasar*. 8(1) : 83-90.
- Fessenden, Ralp J. & Fessenden, Joan S. (1997). Kimia Organik Jilid 1. (Alih bahasa: Aloysius Haryana Pudjaatmaka Pd.D). Jakarta: Erlangga.
- Halliwell, B & J. M. C. Gutteridge. (1999). *Free Radical In Biology And Medicine 3th Edition*. London: Oxford University Press.
- Hardjono Sastrohamidjojo. (2001). Spektroskopi. Liberty: Yogyakarta.
- Hardjono Sastrohamidjojo. (2001). Kromatografi. Liberty: Yogyakarta.

- Hart, H., L.E. Craine, (2003). *Organic Chemistry. 11th edition*. Houghton Mifflin Company.
- Haryatmi. (2004). Kemampuan Vitamin E Sebagai Antioksidan Terhadap Radikal Bebas Pada Usia Lanjut. *Jurnal MIPA UMS*. 14: 52-60.
- Hendayana. (1994). Kimia Analitik Instrumen. Edisi 1. Semarang: IKIP Semarang Press.
- Herry Santoso dan Maria Inggrid. (2014). Ekstraksi Antioksidan dan Senyawa Aktif Dari Buah Kiwi (*Actinidia deliciosa*). Lembaga Penelitian dan Pengabdian Universitas Katolik Pahrayangan.
- Ika Juniawati Putri, Fauziyah & Elfita. (2013). Aktivitas Antioksidan Daun Dan Biji Buah Nipah (*Nypa fruticans*) Asal Pesisir Banyuasin Sumatera Selatan Dengan Metode DPPH. *Maspari Journal*. 5(1) : 16-21.
- Indraswari, A. (2008). Optimasi Pembuatan Ekstrak Daun Dewandaru (*Eugeni Uniflora L.*) Menggunakan Metode Maserasi Dengan Parameter Kadar Total Senyawa Fenolik dan Flavonoid. *Skripsi*. Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Kardono, L. B. S., et al. (2003). Tingkat Manfaat dan Keamanan Tanaman Obat Tradisional. Fakultas Farmasi UGM. Yogyakarta.
- Kemp, W. (1999). *Organic Spectroscopy. 3th edition*. London: Macmillan.
- Kristanti, A.N., N.S. Aminah, M. Tanjung dan B. Kurniadi. (2008). Buku Ajar Fitokimia. Surabaya: Airlangga University Press.
- Nugroho. (2007). Antioksidan. <http://nugrohob.wordpress.com/2007/12/03/antioksidan-pada-13-maret-2015-jam-11.00-wib/>.
- Markham, K. R. (1988). Cara Mengidentifikasi Flavonoid. (Alih bahasa : Kosasih Padmawinata) Bandung: Penerbit ITB.
- Milauskas. (2003). *Screening Of Radical Scavenging Activity Of Some Medical And Aromatic Plant Extract, Food Chemistry*. Diakses dari <http://www.ingentaconnect.com> pada 16 maret 2016, jam 16.00 WIB.
- Miryanti, Y. I. P. Arry. dkk. (2011). Ekstraksi Antioksidan dari Kulit Buah Manggis (*Garcinia Mangostana L.*). Bandung: Lembaga Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat Universitas Katolik Parahyangan.
- Oka Adi Parwata. (2012). Isolasi dan identifikasi 5-hidroksi-7-metoksi flavanon (Pinostrobin) Pada Ekstrak Heksana Rimpang Temu Kunci (*Kaempferia*

- pandurata Roxb). *Prosiding Seminar Nasional Kimia Unesa*. Unesa Surabaya.
- Plantamor. (2016). Diakses dari <http://plantamor.com/index.php?plant=208> pada 12 Maret 2015, jam 09.00 WIB.
- Rina Lisyaningsih., Suyatno. (2012). Aktivitas Antioksidan Senyawa Flavon Dari Tumbuhan Paku *Nephrolepis radicans* (Burm.) Kun. *Prosiding seminar nasional kimia UNESA*. UNESA Surabaya.
- Setiana, A. H. A. Rasyid, N. Fitriani, N. Nurfan, & R Kristian. (2011). Pembentukan Senyawa Alkaloid dan Terpenoid. Universitas Muhammadiyah Sukabumi.
- Sjamsul Arifin A. (1986). Buku Materi Pokok Kimia Organik Bahan Alam, Cetakan Kedua. Jakarta: Depdikbud UT.
- Sovia Lenny. (2006). Senyawa Flavonoid, Fenilpropanoida, Dan Alkaloid. Medan: USU.
- Sri Atun., Nurfina Aznam, Retno Arianingrum, dan Sri Nurestri. (2011). Uji Aktivitas Antiviral Beberapa Rimpang Tumbuhan Zingiberaceae. *Jurnal Penelitian Saintek*. 16 (1), 9-22.
- Siti Sulastri & Susi Kristianingrum. (2003). Kimia Analisis Instrumen. Yogyakarta: Jurusan Pendidikan Kimia FMIPA UNY.
- Sri Wahdaningsih, Erna Prawita Setyowati dan Subagus Wahyuno. (2011). Aktivitas Penangkap Radikal Bebas Dari Batang Pakis (*Alsophila glauca* J. Sm. *Jurnal Obat Tradisional*. 16(3) : 156-160.
- Sudjadi. (2008). Metode Pemisahan. Yogyakarta: UGM Press.
- Triana Hertiani, Abdul Rohman, dan I'natun Nihlati A. (2012). Daya Antioksidan Ekstrak Etanol Rimpang Temu Kunci (*Bosenbergia pandurata* (Roxb.) Schlecht) Dengan Metode Penangkapan Radikal DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil). Yogyakarta: Fakultas Farmasi UGM.
- Veronika Agata Dyah Widiyati Karyantini. (2011) Senyawa Penanda Analitik dari Rimpang Temu Kunci (*Bosenbergia pandurata* (Roxb.) Schelecht). *Skripsi*. Universitas Gajah Mada.
- Wahyu Widyaningsih. (2010). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Dewa (*Gynura procumbens*) dengan Metode DPPH (1,1-defenil-2-pikrilhidrazil). *Prosiding Seminar Nasional Kosmetik Alami*. Fakultas Farmasi Universitas Ahmad Dahlan Yogyakarta. 110-115.

- Wijaya, C. H. (2003). Peran Antioksidan Terhadap Kesehatan Tubuh. Healty Choice: Edisi IV.
- Winarsih, H. (2007). Antioksidan Alami dan Radikal bebas. Kanisius: Yogyakarta.
- Williamson. (1999). Macroscale and Microscale Organic Experiment. USA : Houghton Mifflin Company.
- Wiwik Susanah R. (2010). Isolasi, Identifikasi, dan Uji aktivitas antibakteri senyawa golongan *triterpenoid* pada rimpang temu putih (*Curcuma zedoaria* (Berg.) Roscoe). *Jurnal Kimia*. 4(1) : 20-26.
- Yuswantina, R. (2009). Uji Aktivitas Penangkap Radikal Dari Ekstrak Petroleum Eter, Etil Asetat, Dan Etanol Rhizoma Binahong Dengan Metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrihidrazil). *Skripsi* Universitas Muhamadiyah Surakarta.

LAMPIRAN

Lampiran

Lampiran 1. Surat Keterangan Identifikasi Tanaman


UNIVERSITAS GADJAH MADA
FAKULTAS BIOLOGI
LABORATORIUM SISTEMATIKA TUMBUHAN
Jalan Teknika Selatan Sekip Utara Yogyakarta 55281 Telpox (0274) 6492262/6492272; Fax: (0274) 580839

SURAT KETERANGAN
Nomor : 0675/S.Th./VII/2015

Yang bertanda tangan dibawah ini, Kepala Laboratorium Sistematika Tumbuhan Fakultas Biologi UGM, menerangkan dengan sesungguhnya bahwa,

Nama : Luthfi Fitri Frindryani
NIM : 12307141036
Asal instansi : Fakultas MIPA Universitas Negeri Yogyakarta

telah melakukan identifikasi tumbuhan dengan hasil sebagai berikut,

NO.	FAMILIA	GENUS	SPESES
1	Zingiberaceae	<i>Boesenbergia</i>	<i>Boesenbergia pandurata</i> (L.) Manst. Sinonim: <i>Curcuma rotunda</i> L.

identifikasi tersebut dibantu oleh Dr. Purnomo, M.S.
Demikian surat keterangan ini diberikan untuk dapat dipergunakan seperlunya.

Yogyakarta, 3 Agustus 2015

Mengetahui,
Dekan Fakultas Biologi
Universitas Gadjah Mada



Prof. Dr. Suwarno Hadisusanto, S.U.
NIP. 195411161983031002

Kepala Laboratorium
Sistematika Tumbuhan
Fakultas Biologi UGM



Drs. Heri Sujadmiko, M.Si.
NIP. 196402091991031001

Lampiran 2. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum DPPH

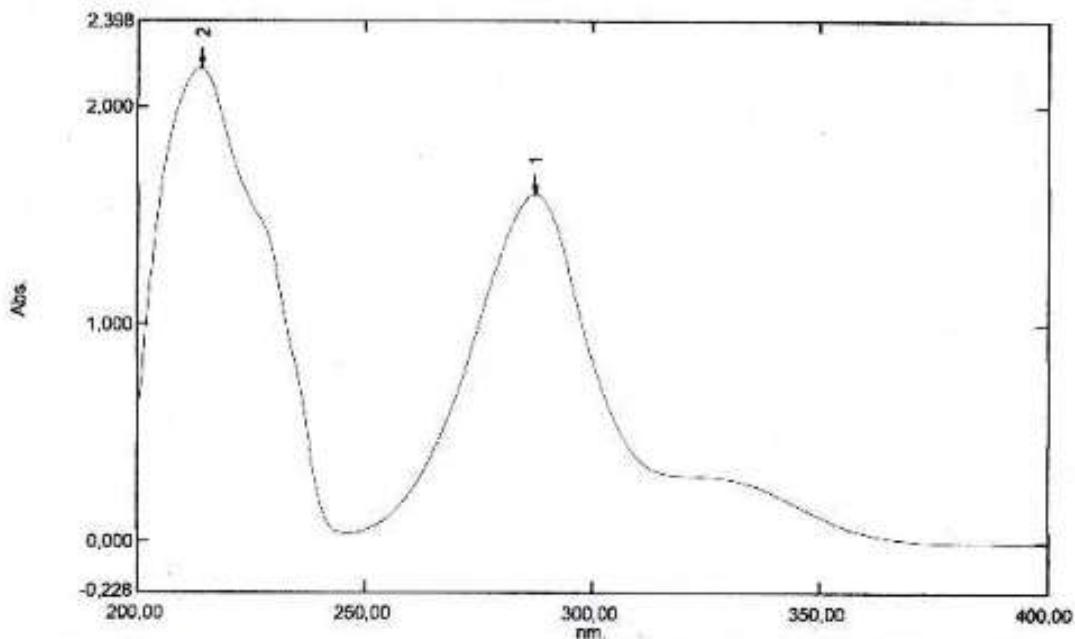
Panjang gelombang (nm)	Absorbansi
510	0,622
515	0,637
516	0,636
517	0,640
518	0,636
520	0,638
525	0,625

Lampiran 3.Spektrum Uv-Vis

Spectrum Peak Pick Report

10/02/2016 08:16:52

Data Set: Pinostrobin metanol.spc - RawData



Measurement Properties
Wavelength Range (nm.): 200.00 to 400.00
Scan Speed: Fast
Sampling Interval: 0.2
Auto Sampling Interval: Enabled
Scan Mode: Single

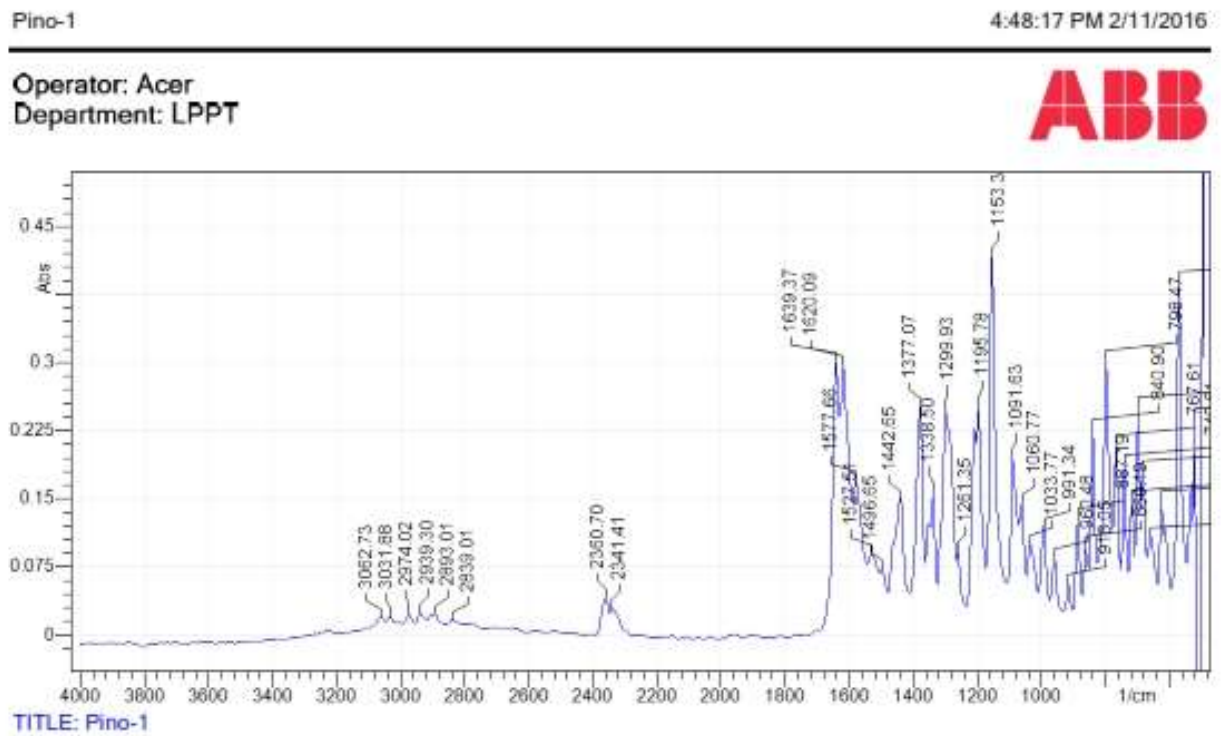
No.	P/V	Wavelength	Abs.	Description
1	●	287.40	1.801	
2	●	214.20	2.179	

Instrument Properties
Instrument Type: UV-2400PC Series
Measuring Mode: Absorbance
Slit Width: 2.0 nm
Light Source Change Wavelength: 360.0 nm
S/R Exchange: Normal

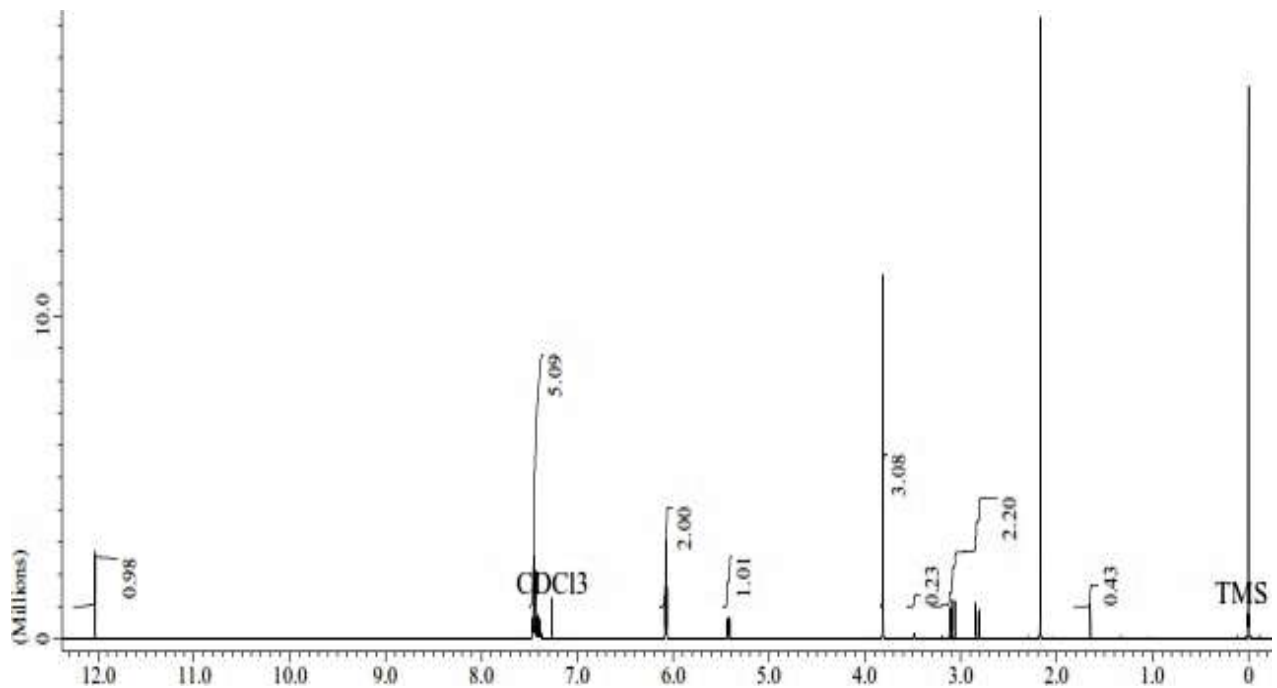
Attachment Properties
Attachment: None

Sample Preparation Properties
Weight:
Volume:
Dilution:
Path Length:
Additional Information:

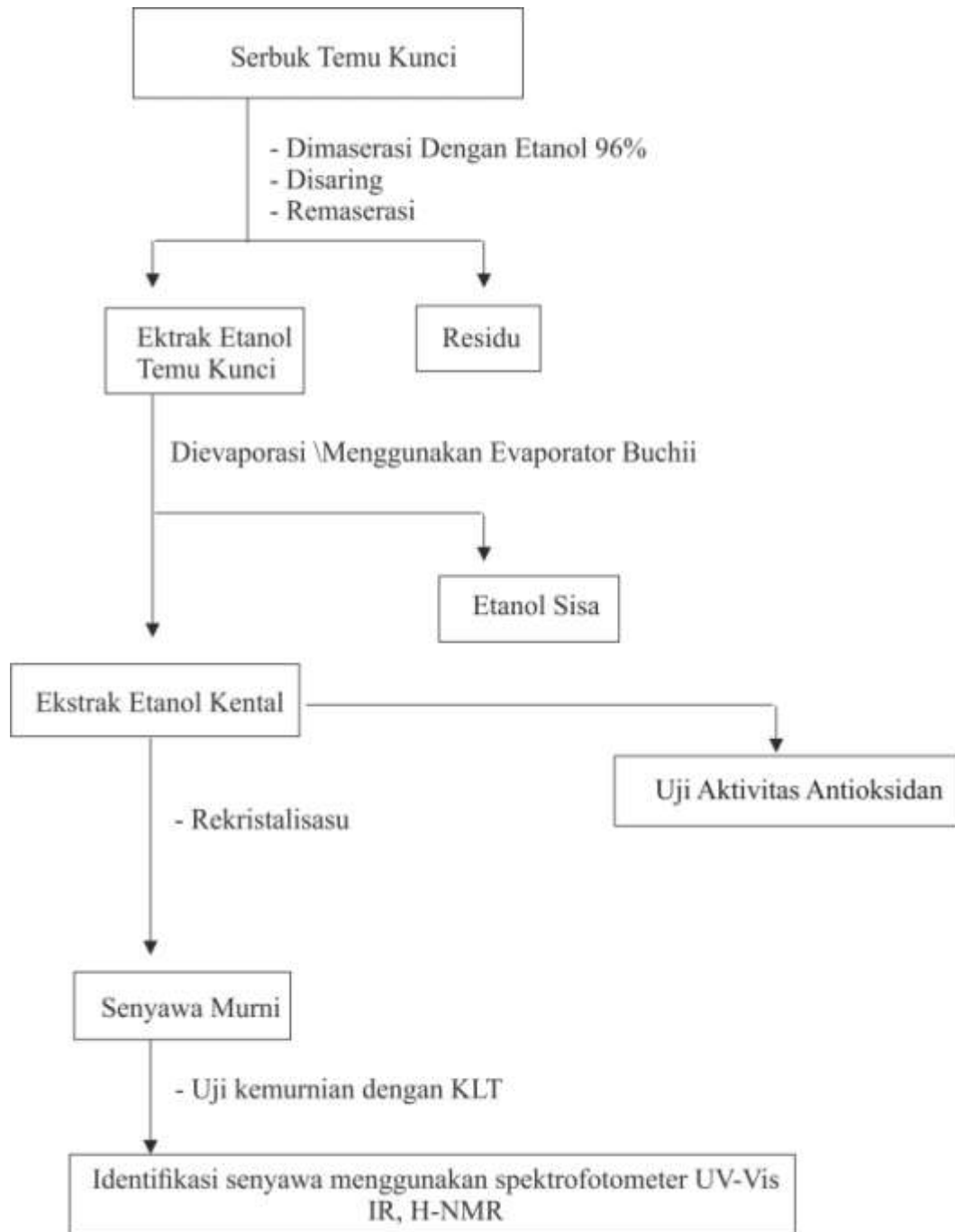
Lampiran 4. Spektrum IR



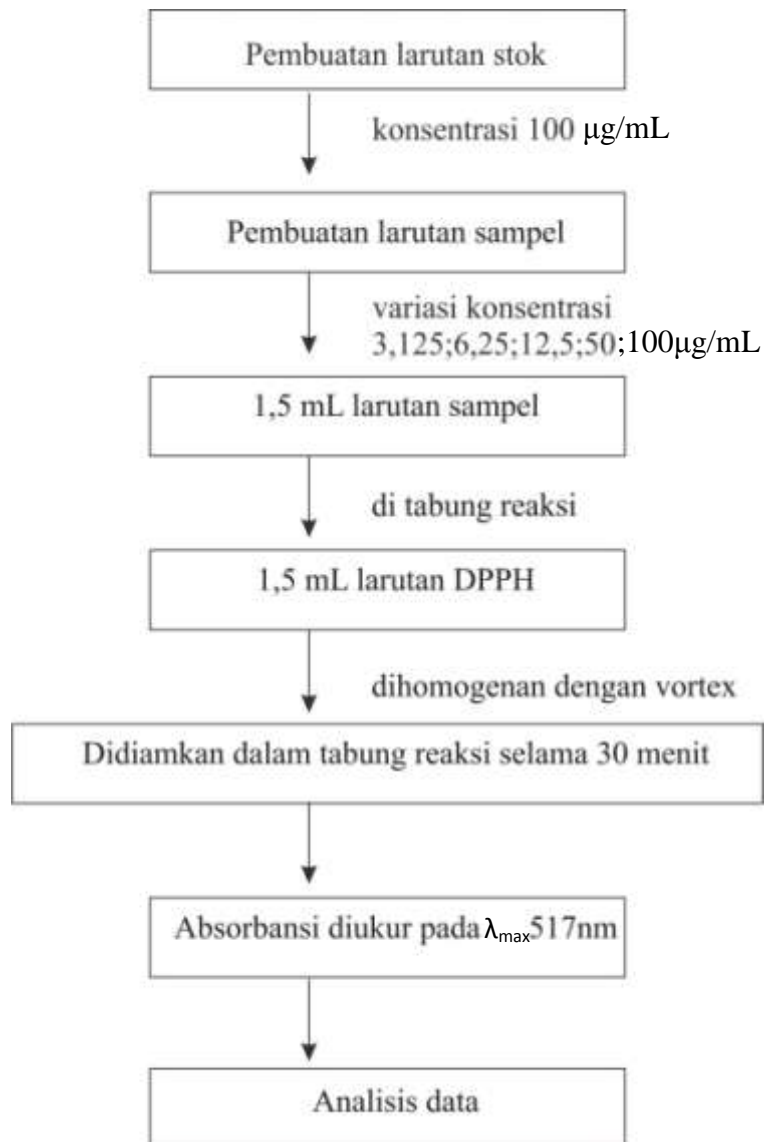
Lampiran 5. Spektrum H-NMR



Lampiran 6. Bagan penelitian



Pengujian aktivitas antioksidan dengan metode DPPH



Lampiran 7. Dokumentasi



Hasil maserasi



Evaporasi hasil maserasi



Ekstrak etanol temu kunci



Larutan DPPH dalam etanol p.a



Pengenceran Ekstrak Dalam Etanol Dengan Konsentrasi 100;50;25;12,5;6,25;3,125 $\mu\text{g/mL}$



Ekstrak dengan konsentrasi 100 $\mu\text{g/mL}$ dan 50 $\mu\text{g/mL}$ setelah ditambahkan larutan DPPH



Ekstrak dengan konsentrasi 12,5 dan 3,125 $\mu\text{g/mL}$ setelah ditambahkan larutan DPPH



Ekstrak dengan konsentrasi 25 dan 6,25 $\mu\text{g/mL}$ setelah ditambahkan larutan DPPH



Perubahan warna ekstrak setelah ditambahkan larutan DPPH



Spektronic 20



Rekristalisasi



Hasil rekristalisasi



Uji kemurnian dengan KLT